



**Sociedad Argentina  
de Hematología**

# **Hemoglobinuria Paroxística Nocturna**

---

**Consenso Argentino  
de Diagnóstico y Tratamiento**

**Grupo Argentino de Interés en HPN**

Edición **2013**



# Índice

---

## Hemoglobinuria Paroxística Nocturna

1. Introducción .....	8
2. Diagnóstico .....	8
Indicaciones de búsqueda de clon(es) HPN por citometría de flujo	9
Solicitud del estudio de citometría de flujo para diagnóstico	
y/o seguimiento de HPN	10
Seguimiento de los clones HPN	11
3. Estudios complementarios recomendados .....	12
4. Clasificación .....	12
Pacientes sin hemólisis intravascular	13
Criterios de severidad	13
5. Tratamiento .....	14
Modalidades terapéuticas	14

## Indicaciones

1. Tratamiento de soporte .....	16
Profilaxis antitrombótica primaria mediante anticoagulación	16
2. Corticoides .....	16
3. Eculizumab .....	16
Monitoreo del tratamiento con eculizumab	17
Suspensión del tratamiento con eculizumab por remisión de la HPN	19
4. Trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (TACPH)	19
5. Tratamiento del paciente con HPN y trombosis .....	21
Fibrinolíticos	21
6. Paciente con HPN y embarazo .....	22
7. Recomendaciones .....	23
7.1 En qué circunstancias clínicas pedir estudio para detectar clones HPN	23
7.2 Muestra requerida e información necesaria de la citometría de flujo para HPN	23
7.3 Solicitud de estudio de citometría de flujo para HPN	24
7.4 Estudios en pacientes con 1 clon HPN	24
7.5 Criterios de severidad de la HPN: presencia de 1 o más de los siguientes	24
7.6 Indicaciones terapéuticas	25
Situaciones Especiales	25

Bibliografía .....	30
--------------------	----

# Hemoglobinuria Paroxística Nocturna

## Consenso Argentino de Diagnóstico y Tratamiento Grupo Argentino de Interés en HPN

---

Dr. Brodsky Andrés<sup>1</sup>, Dr. Cappellino Alfredo<sup>2</sup>, Dra. Molinas Felisa<sup>3</sup>, Dra. Nucifora Elsa<sup>4</sup>, Dr. Real Juan José<sup>5</sup>, Dra. Rocaspana Adriana<sup>6</sup>, Dra. Rossi Blanca<sup>7</sup>, Dr. Sakamoto Francisco<sup>8</sup>, Dr. Vázquez Vicente<sup>9</sup>, Dra. Zirone Sandra<sup>10</sup>, Dra. Agriello Evangelina<sup>11</sup>, Dra. Halperin Nora<sup>1</sup>, Dr. Fernández Escobar Nicolás<sup>12</sup>, Dra. Crisp Renee<sup>13</sup>, Dr. Donato Hugo<sup>14</sup>, Dra. Malusardi Cecilia<sup>1</sup>, Dra. Ceballo Fernanda<sup>1</sup>, Dra. Arcavi Miriam<sup>1</sup>, Dr. Lazarowski Alberto<sup>1</sup>, Dr. Alzueta Abel<sup>15</sup>, Dra. Stivel Miriam<sup>16</sup>, Dra. Alfonso Graciela<sup>13</sup>, Dr. Drelichman Guillermo<sup>12</sup>

<sup>1</sup> Hospital de Clínicas José de San Martín, Buenos Aires; <sup>2</sup> Clínica Nueva Mitre, Buenos Aires; <sup>3</sup> Instituto de Investigaciones Alfredo Lanari, Buenos Aires; <sup>4</sup> Hospital Italiano, Buenos Aires; <sup>5</sup> Hospital Alemán, Buenos Aires; <sup>6</sup> Hospital provincial del Centenario, Rosario; <sup>7</sup> Hospital Córdoba, Córdoba; <sup>8</sup> Hospital San Roque, Entre Ríos; <sup>9</sup> Hospital Español, Buenos Aires; <sup>10</sup> Sanatorio del Niño, Rosario; <sup>11</sup> Laboratorio de Especialidades Bioquímicas (LEB), Bahía Blanca; <sup>12</sup> Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires; <sup>13</sup> Hospital Nacional Prof. Alejandro Posadas, Buenos Aires; <sup>14</sup> Hospital de Niños de San Justo, Buenos Aires; <sup>15</sup> Sanatorio Santa Rosa, La Pampa; <sup>16</sup> Hospital Rawson, San Juan

**Dirección postal:** Andrés L. Brodsky. Av. Córdoba 2351 3er piso, División Hematología, Hospital de Clínicas "José de San Martín". Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina

**Código postal:** 1120

**E-mail:** albrodsky01@yahoo.com.ar

**Fax:** 00541159508754

## Prólogo

---

La creación del Primer Consenso Argentino sobre el Diagnóstico y el Tratamiento de la Hemoglobinuria Paroxística Nocturna (HPN) es una necesidad motivada por el avance en el conocimiento y por las dificultades que presenta el manejo global de esta rara enfermedad para el hematólogo.

La importancia de este Consenso para nuestra región se fundamenta por ser el primero realizado en Latinoamérica y uno de los pocos consensos internacionales sobre HPN.

El objetivo final de este Consenso es actualizar el diagnóstico y el tratamiento de la HPN, ayudando a mejorar el manejo multidisciplinario por parte de hematólogos, clínicos, internistas, bioquímicos y citometristas que tratan o diagnostican a pacientes con HPN.

En octubre de 2011 se creó el Grupo Argentino de Diagnóstico y Tratamiento de la HPN, siendo sus principales objetivos difundir la enfermedad, realizar un consenso nacional y estimular el ingreso de pacientes en los registros argentinos e internacionales de HPN. El diagnóstico correcto y precoz es un reto muy importante para evitar graves complicaciones, como la insuficiencia renal o la trombosis. Los avances en las técnicas diagnósticas por citometría de flujo hicieron necesaria la incorporación de la opinión de expertos nacionales en la materia en este Consenso.

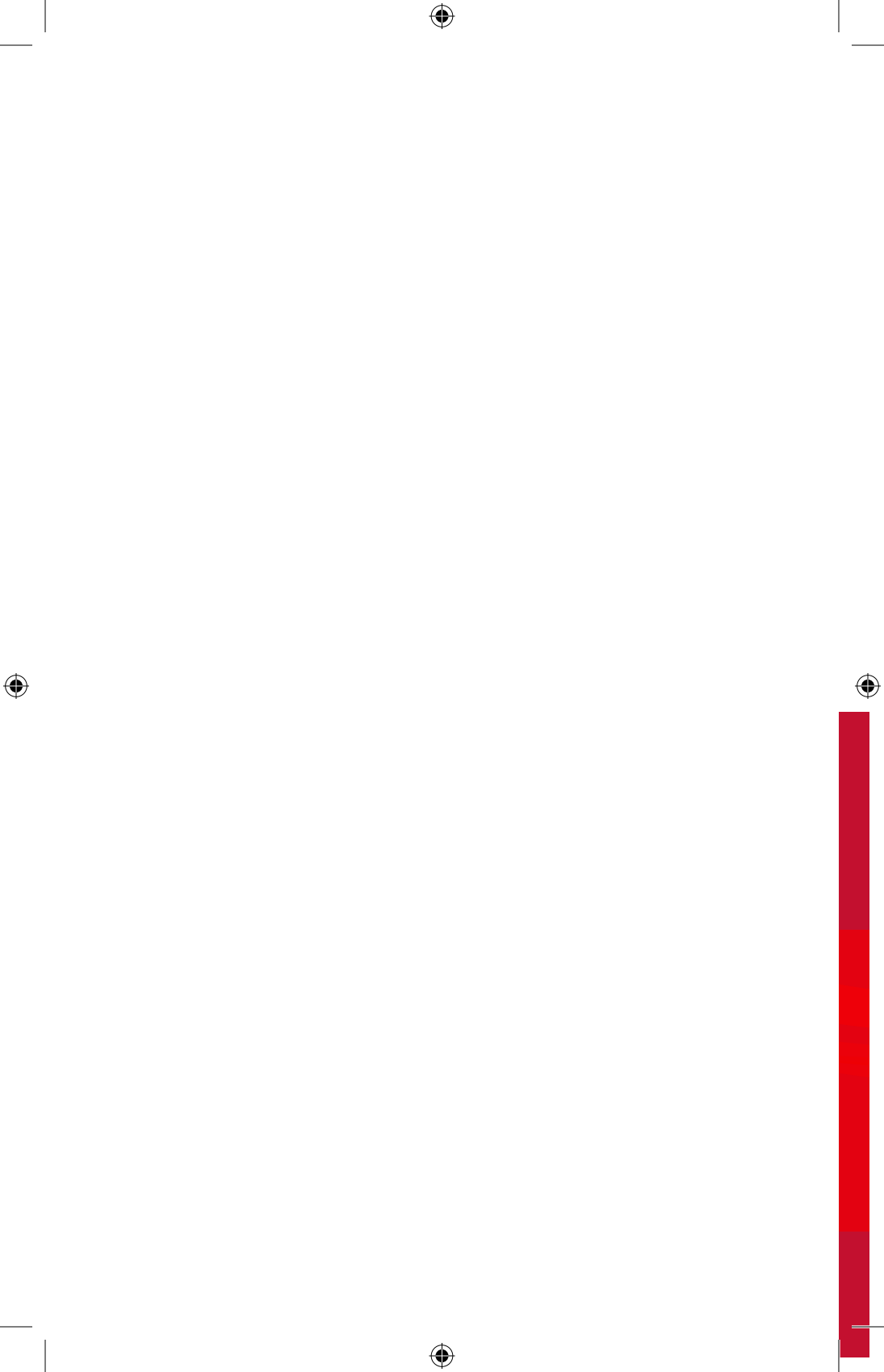
Uno de los impulsos más importantes en el manejo de la enfermedad fue la aprobación del anticuerpo monoclonal Eculizumab por la FDA y la EMEA en el año 2007, logrando cambiar la historia natural de la enfermedad y convirtiendo a la HPN en una de las pocas enfermedades huérfanas con un tratamiento que mejora la sobrevida y la calidad de vida de los pacientes. El tratamiento con Eculizumab evita la aparición de complicaciones y mejora en forma muy significativa el pronóstico de los pacientes con HPN.

En la Argentina hay aproximadamente 115 pacientes con HPN. Una de las principales dificultades para el manejo de la HPN es el acceso a la medicación.

Uno de los objetivos del consenso es que haya una equidad a la hora de acceder al tratamiento en todo el territorio nacional, delimitando, específicamente, las indicaciones actuales de tratamiento médico y las de Trasplante de Medula Ósea.

El Consenso sin duda se transformará en un apoyo científico importante para todos los profesionales que atienden pacientes con HPN a lo largo de todo el territorio nacional.

**Dr. Guillermo Drelichman**



# Hemoglobinuria Paroxística Nocturna

---



## 1. INTRODUCCIÓN

La HPN es una enfermedad clonal no maligna de la hemopoyesis que se origina a partir de una mutación del gen PIG-A, en una célula progenitora (*stem cell*) hematopoyética<sup>1</sup>. Esta mutación impide la síntesis del ancla glicosil-fosfatidil-inositol (GPI) que mantiene unidas a la membrana celular a múltiples proteínas<sup>2,3</sup>. Entre dichas proteínas están el CD55 y el CD59 que constituyen defensas celulares contra componentes del complemento. El clon generado por esta célula mutada y toda su descendencia conserva las capacidades normales de proliferar y diferenciarse pero carece de las proteínas de superficie con anclaje GPI<sup>4</sup>.

Los hematíes del clon HPN, al ser deficientes en CD55 y CD59, sufren la activación del complemento en su superficie, la formación del complejo de ataque de membrana, aparición de poros y lisis intravascular<sup>5</sup>. Las consecuencias son anemia y liberación de hemoglobina eritrocitaria al plasma. La hemoglobina es un potente neutralizador del óxido nítrico (NO), que prácticamente desaparece de la circulación<sup>6</sup>. Además, la hemoglobina y sus pigmentos derivados son filtrados por los glomérulos y captados por los túbulos renales que se sobrecargan de hierro y pigmentos<sup>7,8</sup>.

Las plaquetas del clon HPN, ante la activación del complemento en su superficie, se activan y liberan micropartículas con alta capacidad trombogénica. Además se ha detectado elevación de los marcadores de inflamación y un aumento de las micropartículas leucocitarias en pacientes con HPN, lo que sugiere que los leucocitos HPN también son dañados por el complemento activado<sup>9</sup>.

Cuatro son las manifestaciones clásicas de la HPN<sup>1</sup>: la anemia por hemólisis intravascular, los episodios de hemoglobinuria, las leucopenias y/o plaquetopenias acompañantes que son de grado variable y las trombosis, con frecuencia en sitios inusuales. Una serie de síntomas y signos deteriora mucho la calidad de vida de estos enfermos, como la disnea, la fatiga, la disfagia, los episodios de dolor abdominal y la disfunción eréctil en los varones. Por su valor pronóstico, los compromisos más importantes son las trombosis, el daño renal, la hipertensión pulmonar y, menos frecuentemente, la evolución clonal.

## 2. DIAGNÓSTICO

Históricamente el diagnóstico de la HPN se efectuó evidenciando una mayor sensibilidad de los glóbulos rojos del paciente, respecto de controles normales, a la lisis por el complemento activado, ya sea por acidificación del plasma (test de Ham) o por aumento de su osmolaridad (test de sucrosa). Estos tests presentan baja sensibilidad.

La técnica de elección para el diagnóstico de la HPN es la Citometría de Flujo multiparamétrica<sup>1, 10, 11, 12 13,14</sup>



### Indicaciones de búsqueda de clon(es) HPN por citometría de flujo

1. Hemólisis intravascular evidenciada por
  - Hemoglobinuria
  - Hemosiderinuria
2. Hemólisis no explicada + 1 de los siguientes
  - Ferropenia
  - Dolor abdominal o espasmos esofágicos
  - Trombosis
  - Neutropenia o trombocitopenia
  - Daño renal crónico sin causa evidente
3. Anemia hemolítica adquirida Coombs negativa sin anomalías morfológicas celulares (ejemplo: esquistocitos) y no infecciosa
4. Trombosis con  $\geq 1$  de los siguientes
  - Localizaciones venosas atípicas: esplácnica, cerebral o dérmica
  - Con signos de hemólisis
  - Con citopenias no explicadas
5. Anemia aplásica, mielodisplasia de bajo grado, otras citopenias de causa no aclarada (ensayos de alta sensibilidad para clones muy pequeños).

La **muestra** de preferencia para el diagnóstico de HPN por citometría de flujo es la **sangre periférica**, donde normalmente sólo se encuentran células diferenciadas de los diferentes linajes hemopoyéticos.<sup>10,14</sup> El anticoagulante de elección es el EDTA, pero puede utilizarse heparina o citrato. Debe conservarse a temperatura ambiente y remitirla al laboratorio dentro de las 24 hs. En caso de no poder procesarse en ese lapso de tiempo, se debe agregar el estabilizante Transfix™ que conserva la muestra estable por 7 días.

El diagnóstico de HPN por citometría de flujo requiere demostrar el **déficit de expresión de 2 o más proteínas asociadas a GPI en 2 o más líneas celulares hemopoyéticas distintas** (pueden ser 2 proteínas asociadas a GPI o una proteína asociada a GPI + FLAER<sup>14</sup>). Este déficit puede ser total y se habla de células HPN tipo III, o parcial, en cuyo caso se las llama tipo II (ver Tabla 1).

**Tabla 1. Clasificación de células HPN de acuerdo a la expresión de moléculas ancladas a la membrana por GPI**

- |                                |
|--------------------------------|
| 1. HPN I -- EXPRESIÓN NORMAL   |
| 2. HPN II -- EXPRESIÓN PARCIAL |
| 3. HPN III -- SIN EXPRESIÓN    |

El **tamaño del clon HPN** se debe evaluar **en granulocitos y monocitos pero no en linfocitos**, debido a su larga vida media.

Se recomienda marcar al menos dos moléculas ancladas a GPI en cada tubo para lograr una mejor especificidad y exactitud. Los anticuerpos monoclonales recomendados son los que se detallan en la Tabla 2.

**Tabla 2: Anticuerpos y clones recomendados para cada línea celular**

Anticuerpos	Clon	Células
CD59 PE*	MEM-43	Globulos rojos
CD59 FITC*	MEM-43	Glóbulos rojos
CD16 FITC*	3G8	Neutrófilos
CD66b FITC*	G10F5	Neutrófilos
CD24 PE*	ALB9	Neutrófilos
CD14 PE*	MoP9	Monocitos
FLAER- Alexa 488		Neutrófilos y monocitos

\*Anticuerpos anclados a la membrana celular por GPI

El estudio de las proteínas asociadas a GPI debe combinarse con marcadores que nos permitan la correcta identificación de las poblaciones celulares de interés (Tabla 3).

**Tabla 3: Anticuerpos para identificación de las diferentes poblaciones**

Anticuerpo	Población	Clon
CD235A FITC	Glóbulos rojos	clon KC16
CD64 /CD45	Monocitos	ND*
CD15/CD45 y/o CD33/CD45	Granulocitos	ND*

\*ND: no determinante

No se recomienda el uso de CD55 como único marcador debido a su baja sensibilidad (no permite detectar células HPN subtipo II).

**IMPORTANTE:** Dado que los pacientes sufren de crisis hemolíticas recurrentes y que en varias oportunidades deben recibir transfusiones, el tamaño de los clones detectados en glóbulos rojos generalmente es menor que el hallado en glóbulos blancos.

### Solicitud del estudio de citometría de flujo para diagnóstico y/o seguimiento de HPN

Se recomienda solicitar este estudio de la siguiente manera:

Rp/ Paciente \_\_\_\_\_  
 Cobertura médica \_\_\_\_\_  
 Citometría de flujo de sangre periférica para detectar y medir un clon HPN en eritrocitos, neutrófilos y monocitos con marcado de CD59, CD16, CD24, CD66b, CD14, FLAER y de antígenos específicos de linaje sin anclaje GPI  
 Dr. \_\_\_\_\_

**Informe:**

Tipo Celular	Deficiencia	Resultados
ERITROCITOS	Tipo II (deficiencia parcial de CD59)	%
	Tipo III (deficiencia total de CD59)	%
	<b>Tamaño total del clon (Tipo II y Tipo III)</b>	%
MONOCITOS	Tipo II (deficiencia parcial de CD14)	%
	Tipo III (deficiencia total de CD14)	%
	<b>Tamaño total del clon (Tipo II y Tipo III)</b>	%
NEUTRÓFILOS	Tipo II (deficiencia parcial de CD16/CD24/CD66b)	%
	Tipo III (deficiencia total de CD16/CD24/CD66b)	%
	<b>Tamaño total del clon (Tipo II y Tipo III)</b>	%

**Con Flaer:**

Tipo Celular	Deficiencia	Resultados
ERITROCITOS	Tipo II (deficiencia parcial de CD59)	%
	Tipo III (deficiencia total de CD59)	%
	<b>Tamaño total del clon (Tipo II y Tipo III)</b>	%
MONOCITOS	Tipo II (deficiencia parcial de FLAER/CD14)	%
	Tipo III (deficiencia total de FLAER/CD14)	%
	<b>Tamaño total del clon (Tipo II y Tipo III)</b>	%
NEUTRÓFILOS	Tipo II (deficiencia parcial de FLAER/CD16/CD24/CD66b)	%
	Tipo III (deficiencia total de FLAER/CD16/CD24/CD66b)	%
	<b>Tamaño total del clon (Tipo II y Tipo III)</b>	%

El informe debe llevar una:

**Conclusión:**

- (Si lo hubiese) Se observa un clon de HPN entre los eritrocitos (%), monocitos (%) y granulocitos neutrófilos (%).
- Estos hallazgos son (o no) compatibles con un diagnóstico de hemoglobinuria paroxística nocturna.

**Seguimiento de los clones HPN**

Se recomienda monitorear el tamaño del clon mediante citometría de flujo en:

- Pacientes con HPN tratados con Eculizumab: al inicio del tratamiento, a los 6 meses y posteriormente de forma anual.
- Pacientes con HPN clásica sin tratamiento y HPN asociada (Anemia aplásica, MDS o subclínica) de forma anual.
- Todos los casos en que se observen cambios en la clínica del paciente.

### 3. ESTUDIOS COMPLEMENTARIOS RECOMENDADOS

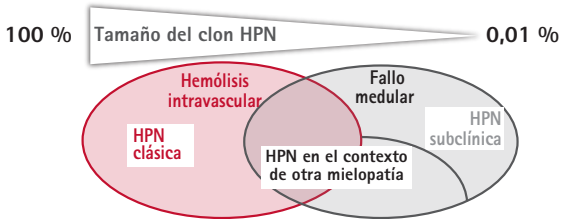
Tabla 4. Estudios recomendados en pacientes con un clon HPN

Objetivos: detectar y/o evaluar	Estudios	A qué pacientes
Citopenias (fallo medular)	Hemograma completo	Todos
Hemólisis	Recuento de reticulocitos	
	Hepatograma (B. I. y TGO)	
	LDH	
	Haptoglobina	
	Hemosiderinuria	
Ferropenia	Ferremia	
	Transferrina	
	Saturación de la transferrina	
	Ferritina	
Compromiso renal	Uremia	
	Creatininemia	
	Clearance de creatinina	
	Orina completa	
Activación de la coagulación	Dímero D	Tratados con eculizumab
Respuesta al eculizumab	Test de Ham	
	Complemento hemolítico total (CH50)	
	C3 y C4	
Mielopatía concomitante	Citología de extendido de médula ósea	Todos
	Anatomía patológica de biopsia de médula ósea	
	Citometría de flujo de médula ósea	
	Citogenético de médula ósea	
Hipertensión pulmonar	Ecocardiograma bidimensional con ecodoppler	Con dolor abdominal
Trombosis venosa esplácnica	Ecodoppler venoso espleno-porto-mesentérico y de venas suprahepáticas	
		Angiorresonancia venosa espleno-porto-mesentérico y de venas suprahepáticas

### 4. CLASIFICACIÓN

Según los antecedentes de enfermedad hematológica previa, la clínica y los hallazgos de los estudios complementarios, se reconocen 2 grupos fisiopatológicos y 4 categorías clínicas de pacientes con presencia de un clon HPN.<sup>1</sup>

### Hemoglobinuria Paroxística Nocturna: fisiopatología y categorías clínicas



#### **Pacientes con hemólisis intravascular**

- **HPN clásica:** con hemólisis intravascular clínicamente manifiesta y sin antecedentes ni evidencias actuales de otra mielopatía que causa fallo medular (aplasia, mielodisplasia o mielofibrosis).
- **HPN en el contexto de otra enfermedad medular:** con hemólisis intravascular clínicamente manifiesta y antecedentes o evidencias actuales de otra enfermedad con fallo medular.

#### **Pacientes sin hemólisis intravascular**

- **HPN en el contexto de otra enfermedad medular:** pacientes con una mielopatía con fallo medular, presencia de un clon HPN >10% y sin clínica ni laboratorio de hemólisis.
- **HPN subclínica:** pacientes con fallo medular (por aplasia, mielodisplasia o mielofibrosis), sin clínica ni laboratorio de hemólisis, a los que se les detecta una pequeña población de células hemopoyéticas GPI negativas por citometría de flujo.

#### **Criterios de severidad**

En pacientes con enfermedad hemolítica, los siguientes signos y síntomas son marcadores de enfermedad de peor pronóstico por lo que deben ser especialmente detectados:

1. Trombosis o embolia con indicación de anticoagulación (aunque no se anticoagule por contraindicaciones como trombocitopenia o sangrado).
2. Transfusión de  $\geq 4$  unidades de glóbulos rojos en el último año y/o anemia sintomática en paciente que rehúsa ser transfundido.
3. Requerimiento continuado o frecuente de corticoides en dosis  $>8$  mg/d de meprednisona para mitigar la hemólisis intravascular.
4. Deterioro de la función renal (clearance de creatinina  $<60$  mL/min) debida a la HPN.
5. Hipertensión pulmonar o disnea secundarios a la HPN.
6. Síntomas severos debidos a la hemólisis intravascular:
  - Fatiga severa que impide las actividades habituales.
  - Dolor gastrointestinal crónico o episódico (se asocia a un mayor riesgo de tromboembolismo).
  - Disfagia severa.

## 5. TRATAMIENTO

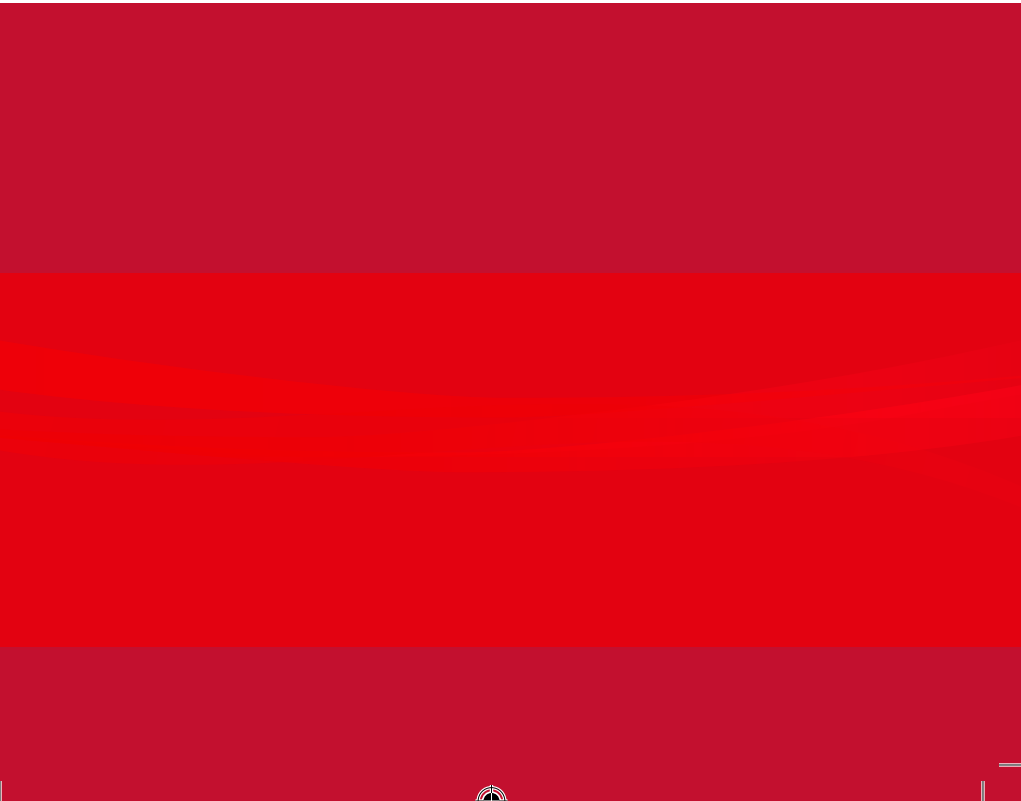
### Modalidades terapéuticas

1. Soporte
2. Esteroides
3. Eculizumab
4. Trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas

1. **Tratamiento de soporte.** Incluye las siguientes medidas terapéuticas
  - a. **Transfusiones:** para anemia severa y/o sintomática. Los glóbulos rojos deben estar **leucodeplecionados**, para evitar reacciones inmunes contra antígenos leucocitarios, que pueden activar la vía clásica del complemento y exacerbar la hemólisis intravascular.
  - b. **Suplementos de ácido fólico y de hierro:** para compensar las pérdidas urinarias de hierro (por hemoglobinuria y hemosiderinuria) y por mayor demanda por aumento de la eritropoyesis.<sup>16</sup>
  - c. **Eritropoyetina:** cuando el fallo medular contribuya a la anemia -manifiesto por recuentos reticulocitarios  $<100.000/\mu\text{L}$ - y la **eritropoyetina endógena sea  $<200 \text{ mU}/\mu\text{L}$** , especialmente si hay deterioro concomitante de la función renal.
  - d. **Anticoagulación:** profilaxis del tromboembolismo venoso.
  
2. **Hormonas esteroideas.** Incluyen los corticoides y los anabólicos androgénicos **Anabólicos** (danazol):<sup>17, 18,19</sup> algunos pacientes responden al danazol con mejoría de la anemia. Se desconoce su mecanismo de acción. El danazol tiene efectos virilizantes, toxicidad hepática y riesgo de favorecer las trombosis, por lo que debe ser empleado a las menores dosis posibles y sólo en pacientes que muestren respuesta (aumento de la hemoglobina y/o reducción de los síntomas por hemólisis) en las primeras 6 a 8 semanas de tratamiento.
  
3. **Eculizumab:** es un anticuerpo monoclonal quimérico (murino humanizado) dirigido contra la fracción  $\text{C}_5$  del complemento<sup>20</sup>. Se une a  $\text{C}_5$  y bloquea su activación, por lo que no se generan  $\text{C}_{5a}$  (un potente quimiotáctico) ni  $\text{C}_{5b}$  lo que impide la formación consiguiente del complejo de ataque de membrana del complemento. Administrado por vía intravenosa, su vida media de eliminación es de  $272 \pm 82 \text{ hs}$ . y la actividad hemolítica del complemento se bloquea con niveles  $> 35 \mu\text{g}/\text{mL}$ .

El bloqueo de la formación del complejo de ataque de membrana origina una susceptibilidad aumentada a infecciones por Neisserias, por lo que **se requiere vacunar a los pacientes contra el Meningococo** al menos 2 semanas previas al inicio del tratamiento con eculizumab.<sup>21</sup>

## Indicaciones



## 1. TRATAMIENTO DE SOPORTE

En pacientes con enfermedad hemolítica sin criterios de severidad.

El paciente manejado con tratamiento de soporte requiere una explicación de los riesgos y complicaciones de la evolución natural de la enfermedad -con la indicación de concurrir a la consulta ante cualquier evento significativo- y un control médico periódico con estudio del compromiso de los órganos blanco de la HPN, para evaluar la continuidad del tratamiento de soporte o el cambio a otra modalidad terapéutica.

### Profilaxis antitrombótica primaria mediante anticoagulación

La anticoagulación para profilaxis antitrombótica primaria es muy controvertida en HPN, ya que un estudio retrospectivo la avala<sup>22</sup> mientras otro la desestima.<sup>15</sup> Por lo tanto en pacientes que reciben tratamiento de soporte, **la anticoagulación profiláctica debe evaluarse en forma individual**, en base tanto a la presencia de factores de riesgo de trombosis (mayor tamaño del clon HPN, dímero D elevado, mayor edad, comorbilidad) como de sangrado (plaquetas < 100.000/ $\mu$ L).

## 2. CORTICOIDES

Su mecanismo preciso de acción se desconoce. Su objetivo es **reducir la severidad de la hemólisis intravascular y mitigar los síntomas asociados a la misma**. Inicialmente se requieren dosis elevadas (suprafisiológicas) de 0,5 a 1 mg/kg/d de meprednisona. La indicación clásica es administrar un curso corto (1 semana) para frenar la crisis hemolítica severa y reducir rápidamente las dosis y pasar a un régimen de días alternos (por ejemplo: 16 mg c/2 días). En muchos casos la hemólisis recrudece con el descenso de dosis y obliga al empleo de dosis elevadas por tiempo prolongado.<sup>23-25</sup>

## 3. ECULIZUMAB

El eculizumab fue evaluado en pacientes con HPN en 3 estudios clínicos.<sup>20, 26, 48</sup> Sus principales beneficios terapéuticos fueron:<sup>27-39</sup>

- Una reducción veloz y sostenida de la hemólisis intravascular (medida por el descenso de los niveles de LDH).<sup>20</sup>
- Una veloz mejoría de la fatiga y de la disnea (a la semana del inicio del eculizumab).<sup>20, 26, 40</sup>
- Una reducción de los requerimientos transfusionales.<sup>20, 48</sup>
- Un aumento de los niveles de hemoglobina.<sup>20, 26, 33, 43</sup>
- Una reducción >80% en la incidencia de eventos tromboembólicos.<sup>44, 45</sup>
- En los pacientes con deterioro de la función renal, mejoría (en la mayoría) o estabilización (en el resto) de su función renal.<sup>46</sup>



- Una reducción de la presión arterial sistémica y de los niveles del péptido natriurético cerebral (BNP), como marcador de un descenso de la presión arterial pulmonar.<sup>40,47</sup>
- Una sobrevida a 5 años mayor al 95% -similar a la de controles normales de igual sexo- y edad,<sup>44</sup> y a 10 años superior al 80%, levemente inferior a la normal por defunciones debidas a aplasia medular o a evolución clonal a mielodisplasia o a leucemia mieloide aguda.<sup>49</sup>

El eculizumab está indicado en **pacientes con:**

- 1. Hemólisis intravascular clínicamente manifiesta** (LDH > 1,5 x Límite Superior Normal).
- 2.** Debida a la HPN, con la demostración de una población clonal significativa (> 10% medida en neutrófilos o monocitos).\*
- 3. + uno o más de los criterios de severidad.**

\* El tamaño del clon no debe medirse en hematíes, ya que por hemólisis y/o transfusiones su magnitud con frecuencia se subestima

### Monitoreo del tratamiento con eculizumab

Las herramientas de laboratorio disponibles en nuestro medio para confirmar el cese de la hemólisis intravascular por eculizumab en HPN incluyen:

- Niveles de LDH.
- Niveles de hemoglobina libre en plasma.

El bloqueo efectivo del complemento terminal se puede evidenciar mediante:

- Niveles de complemento hemolítico total (CH50), C3 y C4.
- Test de Ham.

La LDH, pese a no ser específica, es el marcador más sensible y fidedigno de los niveles de hemólisis intravascular. Sus valores descienden rápidamente al detenerse la hemólisis y vuelven a ascender si se reactiva<sup>43,48</sup>. Por ello, conviene medir sus niveles en forma seriada, para detectar escapes hemolíticos por cese del efecto bloqueante del anticuerpo antes de la siguiente dosis quincenal. El bloqueo del complemento puede perderse o bien porque el paciente degrada más rápido el eculizumab, lo que reduce su vida media, o por una mayor activación del complemento (por ejemplo por una infección intercurrente, un traumatismo, etc.), que no llega a ser bloqueada por el eculizumab.<sup>48,50</sup>

La hemoglobina libre en plasma es un marcador muy específico, pero menos sensible y fidedigno de los niveles de la hemólisis intravascular. La elevación simultánea de ambos (LDH y hemoglobina libre en plasma) certifica que estamos frente a una destrucción de hematíes en el torrente circulatorio y que el ascenso de la LDH -al menos en parte- se debe a dicha hemólisis.

La medición del complemento hemolítico total permite evaluar el grado de bloqueo de la vía clásica del complemento alcanzado con el tratamiento. El eculizumab, al unirse a C<sub>5</sub> y evitar su activación por las convertasas de C<sub>5</sub> bloquea las 3 vías del complemento (clásica, de las lectinas y alterna). Los niveles de CH50 se relacionan con el grado de bloqueo del complemento:

- a. Valores  $\geq 20$  unidades indican una ausencia de bloqueo y se corresponden con niveles séricos de eculizumab inferiores a  $35 \mu\text{g}/\text{mL}$ <sup>50</sup>
- b. Niveles  $\leq 1$  unidad indican bloqueo total del complemento
- c. Valores detectables  $< 20$  unidades -especialmente entre 10 y 20- indican existencia de un bloqueo parcial, con probabilidad de un escape hemolítico a corto plazo

El test de Ham, empleado antiguamente para el diagnóstico de hemólisis por HPN, adquiere una nueva indicación, la de monitorear el bloqueo del complemento por el tratamiento con eculizumab **en pacientes con test de Ham positivo antes de iniciar tratamiento**. Para ello se requiere una modificación de la técnica original (Tabla 5).<sup>51</sup>

**Tabla 5: Test de Ham modificado para monitoreo del tratamiento con eculizumab**

Reactivos	Tubo 1 ( $\mu\text{L}$ )	Tubo 2 ( $\mu\text{L}$ )	Tubo 3 ( $\mu\text{L}$ )	Tubo 4 ( $\mu\text{L}$ )	Tubo 5 ( $\mu\text{L}$ )	Tubo 6 ( $\mu\text{L}$ )
Gs Rs del paciente al 50%	50	50	-	-	50	50
Gs Rs normales al 50%	-	-	50	50	-	-
Suero normal	500	500	500	500	-	-
Suero del paciente	-	-	-	-	500	500
Ac. clorhídrico 0,2N	-	50	-	50	-	50
MgCl (23,7 g/L)	10	10	10	10	10	10

(Incubar por 1 hora a  $37^{\circ}\text{C}$ , y centrifugar luego durante 5 minutos a 3000 RPM)

El test así modificado permite detectar la presencia de un bloqueo de la vía alterna. Los resultados posibles son:<sup>51</sup>

1. Perfil de bloqueo: se ha definido este nuevo resultado para el test de HAM cuando se observa hemólisis en el tubo 2 (hematíes del paciente frente a suero acidificado normal) y ausencia de lisis en el tubo 6 (hematíes del paciente frente a suero acidificado del paciente). Este resultado indica que el eculizumab está bloqueando el complemento.
2. Positivo: cuando se observa lisis en los tubos 2 y 6. Este resultado, en un paciente tratado con eculizumab, refleja ausencia de bloqueo del complemento pese al tratamiento.
3. Negativo: cuando todos los tubos presentan ausencia de lisis. En un paciente con un test de HAM positivo previo al tratamiento, este resultado indica una reducción del clon HPN eritrocitario (por remisión espontánea de la enfermedad o por crisis hemolítica previa).

### **Suspensión del tratamiento con eculizumab por remisión de la HPN**

Algunos pacientes en tratamiento con eculizumab presentan espontáneamente un **descenso del clon HPN a niveles que no presentan hemólisis intravascular manifiesta por clínica ni laboratorio (clon HPN en granulocitos < 10%)**. En este caso pueden discontinuar el tratamiento con eculizumab, ya que no hay hemólisis clínica ni de laboratorio y el riesgo consecuente de trombosis o de daño de otros órganos blanco (riñón, hipertensión pulmonar) disminuye marcadamente.

## **4. TRASPLANTE ALOGÉNICO DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS (TACPH)**

El TACPH continúa siendo hasta la fecha la única estrategia de tratamiento curativa para esta entidad, pero se asocia a una alta morbimortalidad.<sup>52-54</sup>

Una revisión reciente de la experiencia existente en HPN y trasplante de médula ósea arribó al siguiente consenso:

1. Eculizumab es la indicación para los casos de hemólisis intravascular (HPN clásica) y también en la prevención de los eventos tromboembólicos.
2. Tanto los regímenes mieloablativos como los de intensidad reducida han demostrado ser útiles para curar la enfermedad.<sup>53-55</sup> Las ventajas de uno sobre otro requieren todavía de un mayor análisis. En pacientes con disfunción de órganos moderada o edad avanzada, se sugieren los regímenes condicionantes de intensidad reducida por la mejor tolerancia.
3. En la era del eculizumab las indicaciones del TACPH son:<sup>54-58</sup>
  - a. aplasia medular severa (vs. inmunosupresión)
  - b. evolución clonal (mielodisplasia/LMA)
  - c. presencia de un donante singénico
  - d. falla de respuesta al eculizumab (trombosis recurrente, hemólisis severa persistente)

Tabla 6. Indicaciones terapéuticas en Hemoglobinuria Paroxística Nocturna

Grupo fisiopatológico	Forma clínica	Criterios de severidad	Modalidad terapéutica	Recursos terapéuticos				
Enfermedad hemolítica	Clásica	No	Soporte	Transfusiones GR				
				Suplemento de Fe				
				Acido fólico				
				Anticoagulación profiláctica				
		Sí		Bloqueo del complemento	Eculizumab			
					Anticoagulación terapéutica			
				Paliación sintomática	Corticoides			
	En el contexto de otra mielopatía	No		Soporte	GR + Fe + Ac. fólico ± anticoagulación			
					Eritropoyetina			
					Danazol			
Sí (x hemólisis)				Bloqueo del complemento	Eculizumab			
					Anticoagulación terapéutica			
				Paliación sintomática	Corticoides			
Sí (x fallo medular)*			Inmunosupresión	GAT/CSA				
			Trasplante	Trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas				
Enfermedad no hemolítica	En el contexto de otra mielopatía	No	No intervención	Control periódico				
				Sí*	Inmunosupresión	GAT/CSA		
						Trasplante	Trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas	
	Subclínica	No		No intervención	Control periódico			
					Sí*	Inmunosupresión	GAT/CSA	
							Trasplante	Trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas

\*Recuento de neutrófilos &lt; 500/μL, recuento de plaquetas &lt; 20.000/μL

GAT: globulina antitimocítica. CSA: ciclosporina A

## 5. TRATAMIENTO DEL PACIENTE CON HPN Y TROMBOSIS

En el paciente con HPN y trombosis venosa profunda proximal o esplácnica, la contribución de cada modalidad terapéutica (anticoagulación y eculizumab) al tratamiento no está aún adecuadamente estudiada.<sup>59</sup>

Por ello, salvo que exista contraindicación para la anticoagulación, **la recomendación es un tratamiento combinado con eculizumab y anti-coagulación**. Se desconoce si la anticoagulación puede suspenderse tras un período sin nuevas trombosis (por ejemplo 6, 12 o 24 meses) por lo que, de no haber contraindicaciones se continúan ambos tratamientos **en forma permanente**.<sup>59-61</sup>

En cambio, el paciente con HPN que recibe anticoagulación como profilaxis primaria y que inicia tratamiento con eculizumab sin haber padecido una trombosis, puede suspender la anticoagulación, ya que su riesgo de trombosis -y su dímero D- disminuyen con el bloqueo del complemento.<sup>49,62</sup>

### Fibrinolíticos

La fibrinólisis por vías sistémica o endovascular han sido empleadas exitosamente en casos de HPN con trombosis venosas severas, con riesgo de vida del paciente, tras el fracaso de la anticoagulación y con efectos beneficiosos en hasta 6 semanas post inicio del evento trombotico. Su riesgo de sangrado mayor es importante (del orden del 20%), por lo que se reserva como procedimiento de salvataje tras el fracaso de la anticoagulación + eculizumab. Sus indicaciones lógicas son:<sup>63</sup>

1. **Pacientes con trombosis venosas que amenacen la vida** (suprahepática, cerebral, renal, mesentérica, etc.).
2. **Sin respuesta a anticoagulación** (+ eculizumab si está disponible).
3. **Menos de 2 meses del comienzo del episodio trombotico**.

Las condiciones necesarias para poder indicar este tratamiento son:

- Ausencia de sangrado activo.
- Recuento plaquetario > 50.000/ $\mu$ L o con cobertura de transfusión de plaquetas.
- Estudios por imágenes disponibles para demostrar la presencia de trombosis y evaluar su respuesta al tratamiento (y determinar así su duración).
- En terapia intensiva, con una vía central colocada para evitar punciones venosas y especialmente arteriales.
- Idealmente dosar niveles de plasminógeno en casos de síndrome de Budd-Chiari severo y de ser bajos, con aporte adicional de plasma fresco congelado (como fuente de plasminógeno).

Se suspende la anticoagulación y se administra tPA en infusión i.v. continua de 1 mg/kg/día, tras lo cual se reinicia la anticoagulación y se reevalúa la presencia de reperfusión. De no haber respuesta y si no ocurrió un sangrado mayor se reinicia la infusión de tPA (otro ciclo de 24 hs), que pueden repetirse las veces necesarias (se han administrado hasta 5 cursos diarios consecutivos de tPA en la literatura).

## 6. PACIENTE CON HPN Y EMBARAZO

El embarazo y el puerperio constituyen situaciones de alto riesgo para las pacientes con HPN. Las revisiones de la literatura y una serie retrospectiva de pacientes con tratamiento de soporte muestran una alta morbimortalidad embriofetal con 12% de muertes espontáneas o abortos terapéuticos y 28% de prematuridad y una alta morbimortalidad materna gestacional y puerperal con 8% de mortalidad, 24% de trombosis o hemorragias y requerimientos transfusionales en más del 50% de las pacientes.<sup>64</sup> Por ello el consejo clásico para toda mujer joven con HPN es evitar los embarazos.

Para el caso de la paciente con HPN que cursa un embarazo, las recomendaciones clásicas son:<sup>35, 65, 66</sup>

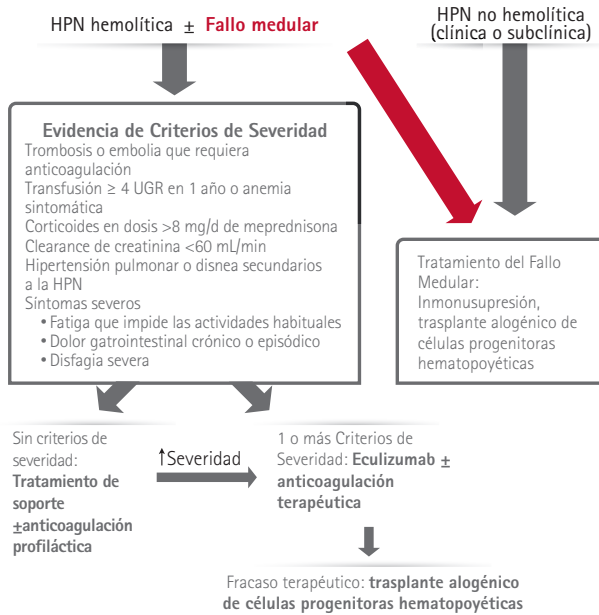
- Aporte intensivo de hierro y folato (oral o con frecuencia parenteral).
- Anticoagulación con heparina de bajo peso molecular durante todo el embarazo y el puerperio.
- Rotar a heparina no fraccionada peri parto inmediato.

Pese a aplicarse estas indicaciones, los requerimientos transfusionales y las trombosis son frecuentes en estas pacientes.

Aún no se conoce la seguridad del eculizumab en la gesta y el puerperio. En la limitada experiencia disponible, no hubo morbimortalidad embriofetal en ninguna de las exposiciones maternas al eculizumab y los niveles de pasaje trasplacentario parecen ser bajos o nulos.<sup>67</sup> El bajo pasaje a leche materna sugiere que no sería necesario evitar la lactancia.

Dada la alta morbilidad asociado al embarazo y puerperio en HPN, el efecto beneficioso del eculizumab sobre la hemólisis y las trombosis (exacerbadas en estas circunstancias) y la limitada experiencia disponible, su indicación parece razonable durante la gesta y el puerperio, por lo que se sugiere una discusión informada entre el médico y la paciente (y su pareja) para compartir la decisión final. En caso de ser empleado, hay que monitorear el efecto del eculizumab, ya que la dosis requerida suele aumentar con el progreso de la gesta, con aparición de escapes hemolíticos.<sup>67-71</sup>

## Algoritmo Terapéutico en HPN



## 7. RECOMENDACIONES

### 7.1 En qué circunstancias clínicas pedir estudio para detectar clones HPN

1. Hemólisis intravascular evidenciada por hemoglobinuria o hemosiderinuria.
2. Hemólisis no explicada + 1 o más de los siguientes: ferropenia, dolor abdominal, espasmos esofágicos, trombosis, neutropenia, trombocitopenia, enfermedad renal crónica sin causa evidente.
3. Anemia hemolítica adquirida Coombs negativa sin anomalías morfológicas celulares (ejemplo: esquistocitos) y no infecciosa.
4. Trombosis + 1 o más de los siguientes: localización venosa atípica -esplácnica, cerebral o dérmica-, signos de hemólisis ó citopenias no explicadas.
5. Anemia aplásica, mielodisplasia de bajo grado, otras citopenias de causa no explicada (ensayos de alta sensibilidad para clones muy pequeños).

### 7.2 Muestra requerida e información necesaria de la citometría de flujo para HPN

1. La **muestra** para el diagnóstico de HPN por citometría de flujo es la **sangre periférica**.

2. Es necesario demostrar el **déficit de expresión de 2 o más proteínas asociadas a GPI en 2 o más líneas celulares hematopoyéticas distintas.**
3. El **tamaño del clon HPN** se debe evaluar en **granulocitos y monocitos.**

### 7.3 Solicitud de estudio de citometría de flujo para HPN

Citometría de flujo de sangre periférica para detectar y medir un clon HPN en eritrocitos, neutrófilos y monocitos con marcado de CD59, CD16, CD24, CD66b, CD14, FLAER y de antígenos específicos de linaje sin anclaje GPI.

### 7.4 Estudios en pacientes con 1 clon HPN

#### 1. Laboratorio para evaluar:

- a. Fallo medular concomitante y su severidad: hemograma completo, recuento de reticulocitos.
- b. Hemólisis intravascular: hepatograma, LDH, haptoglobina, hemoglobina libre en plasma, hemosiderinuria.
- c. Ferropenia: ferremia, transferrina, saturación de la transferrina, ferritina.
- d. Compromiso renal: uremia, creatininemia, clearance de creatinina, orina completa.
- e. Respuesta al tratamiento: test de Ham, complemento hemolítico total, C3, C4.
- f. Activación de la coagulación: dímero D.

2. **Estudio de médula ósea** con citogenética e inmunomarcación para evaluar mielopatía concomitante.

3. **Ecocardiograma bidimensional con eco doppler** para detectar hipertensión pulmonar.

4. **Ecografía abdominal con doppler venoso o angiorresonancia venosa espleno-porto-mesentérica y de venas suprahepáticas** ante síntomas de dolor abdominal para detectar trombosis venosas.

### 7.5 Criterios de severidad de la HPN: presencia de 1 o más de los siguientes

1. Trombosis o embolia que requiera anticoagulación.
2. Transfusión de  $\geq 4$  unidades de glóbulos rojos en 12 meses o anemia sintomática.
3. Requerimiento de corticoides en dosis  $>8$  mg/d de meprednisona.
4. Deterioro de la función renal (clearance de creatinina  $<60$  mL/min).
5. Hipertensión pulmonar o disnea secundarios a la HPN.
6. Síntomas severos:
  - Fatiga que impide las actividades habituales.
  - Dolor gastrointestinal crónico o episódico.
  - Disfagia severa.



## 7.6 Indicaciones terapéuticas

1. **Soporte:** pacientes con HPN hemolítica sin criterios de severidad.
2. **Anticoagulación como profilaxis antitrombótica primaria:** pacientes con riesgo elevado de trombosis (clon HPN > 50% y/o dímero D elevado y/o edad y/o comorbilidad) y bajo riesgo de sangrado (plaquetas > 100.000/ $\mu$ L). Evaluar riesgo-beneficio en cada paciente.
3. **Eritropoyetina:** pacientes con reticulocitos < 100.000/ $\mu$ L y dosaje de eritropoyetina < 200 mU/ $\mu$ L. Especialmente si hay compromiso de la función renal.
4. **Corticoides:** hemólisis muy sintomática y/o plaquetopenia severa sin acceso a eculizumab. A dosis de hasta 1 mg/kg/d de meprednisona por períodos cortos (1 semana) y reducir rápidamente a 16 mg c/2 días.
5. **Danazol:** pacientes con evidencias de fallo medular concomitante.
6. **Eculizumab:** pacientes con HPN hemolítica y al menos 1 criterio de severidad.
7. **Trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas:** pacientes con:
  - a. aplasia medular severa (vs. inmunosupresión).
  - b. evolución clonal (mielodisplasia/LMA).
  - c. donante singénico.
  - d. falla de respuesta al eculizumab (trombosis recurrente, hemólisis severa persistente).

## Situaciones Especiales

1. **HPN + Trombosis venosa profunda:** Eculizumab + anticoagulación por tiempo indefinido.
2. **HPN + embarazo/puerperio:**
  - a. Aporte intensivo de hierro y folato.
  - b. Anticoagulación con heparina de bajo peso molecular durante todo el embarazo y el puerperio.
  - c. Anticoagulación con heparina no fraccionada peri parto inmediato.
  - d. Evaluar en cada caso individual el empleo de eculizumab.

## **COORDINADORES GENERALES**

Dr. Guillermo Drelichman

*Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires*

Dr. Andrés Brodsky

*Hospital de Clínicas José de San Martín, Buenos Aires*

## **INSTITUCIONES**

*Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires*

Dra. Valeria Touliet

*Centro Gallego, Buenos Aires*

Dra. María Amoroso Copello

*CITOMLAB (Laboratorio de Diagnóstico), Buenos Aires*

Dra. Virna Barcala

*Clínica Doctus, Santa Fe, Santa Fe*

Dr. Gonzalo Granero

*Clínica Nueva Mitre, Buenos Aires*

Dr. Alfredo Cappellino

*Consultorio de Estudios Hematológicos, Comodoro Rivadavia, Chubut*

Dra. María del Pilar Canigia

*Consultorio de Hematología, San Nicolás, Buenos Aires*

Dr. Raúl Beguelin

Dr. Pedro Beguelin

*Consultorio Privado, Buenos Aires*

Dr. Armando Anselmo

*Consultorio Privado, Concepción del Uruguay, Entre Ríos*

Dra. Gabriela Perinotto

*Consultorio Privado, Viedma, Río Negro*

Dr. Luis Nievas

*FUNDALEU (Laboratorio de Diagnóstico), Buenos Aires*

Dra. Mariela Monreal

*Hospital Aeronáutico Central, Buenos Aires*

Dr. Daniel Caviglia

*Hospital Alemán, Buenos Aires*

Dr. Gonzalo Garate

Dr. Juan José Real

*Hospital Alvarez, Buenos Aires*

Dr. Rainoldo Besares

Dra. Marian Kruss

Dr. Ignacio Ledesma

*Hospital Central Mendoza, Mendoza*

Dra. Graciela Salinas

*Hospital Córdoba, Córdoba*

Dra. Blanca Rossi  
Dr. Ricardo Ryser

*Hospital de Balcarce, Buenos Aires*

Dra. Aura Perozzi

*Hospital de Clínicas José de San Martín (Laboratorio de Diagnóstico), Buenos Aires*

Dra. Nora Halperin  
Dra. Cecilia Malusardi

*Hospital de Clínicas José de San Martín, Buenos Aires*

Dr. Andrés Brodsky  
Dra. Laura Colin

*Hospital de Niños de Córdoba, Córdoba*

Dra. Viviana Listello

*Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires*

Dr. Guillermo Drelichman  
Dr. Nicolas Fernández Escobar

*Hospital de Niños San Roque, Paraná, Entre Ríos*

Dr. Francisco Sakamoto

*Hospital del Carmen, Mendoza*

Servicio de Hematología

*Hospital del Cruce Dr. Néstor C. Kirchner, Buenos Aires*

Dra. Alejandra Marti

*Hospital Escuela de Agudos Dr. Ramón Madariaga, Misiones*

Dra. Haydee Bernard  
Dra. Andrea Delia

*Hospital Español, Buenos Aires*

Dr. Vicente Vázquez

*Hospital Eva Perón (Ex Castex), Buenos Aires*

Dr. Norberto Lamachia

*Hospital Garrahan, Buenos Aires*

Servicio de Hematología

*Hospital General de Agudos Carlos G. Durand, Buenos Aires*

Dra. Laura Fischman  
Dra. María Gabriela Flores  
Dra. Adriana Gaité  
Dra. Jaqueline González  
Dr. Gustavo Kantor  
Dr. Maximiliano Pavlove  
Dra. Aida Starosta  
Dra. Verónica Verri

*Hospital Houssay, Buenos Aires*

Dr. Carlos Barragan  
Dra. Bibiana Hansson

*Hospital Interzonal General de Agudos Evita, Buenos Aires*

Dra. Lilian Cornejo

*Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires*

Dra. Elsa Nucifora

*Hospital Luis Carlos Lagomaggiore, Mendoza*

Dra. Liliana Osay

*Hospital Melchor Romero, La Plata*

Dra. Celina Ávila

Dra. Laura Vives

*Hospital Militar Central, Buenos Aires*

Dr. Miguel Álvarez Alcon

Dra. Mabel Soria

*Hospital Municipal de Agudos Dr. Leónidas Lucero, Bahía Blanca, Buenos Aires*

Dra. Alejandra Larregina

*Hospital Municipal de Trauma y Emergencia Dr. Federico Abete, Buenos Aires*

Dra. Adriana Degano

*Hospital Nacional de Clínicas Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba*

Dra. Viviana Heller

*Hospital Nacional Prof. Alejandro Posadas, Buenos Aires*

Dra. Graciela Alfonso

Dra. Josefina Freitas

Dra. Natalia Oliveira

Dr. Mario Ramírez

Dra. Christina Richieri

Dra. Esther Rosenfeld

Dr. David Veron

*Hospital Naval Puerto Belgrano, Punta Alta, Buenos Aires*

Dr. Néstor Silenzi

*Hospital Padilla, Tucumán*

Dra. Teresa Barraza

*Hospital Penna, Buenos Aires*

Dr. Alberto Maneyro

*Hospital Presidente Perón (Ex Finochietto), Buenos Aires*

Servicio de Hematología

*Hospital Prof. Raúl Lacarde, Buenos Aires*

Dr. Omar Loza

*Hospital Provincial Castro Rendon, Neuquén*

Dra. Graciela Díaz

Dra. Natalia Martínez Perticone

*Hospital Provincial del Centenario de Rosario, Santa Fe*

Dra. Adriana Rocaspana

*Hospital Ramón Carrillo, Bariloche, Río Negro*

Dr. Marcelo Furque

*Hospital Rawson, San Juan*

Dra. Miriam Stivel

*Hospital Regional de Mar del Plata, Buenos Aires*

Servicio de Hematología

*Hospital San Martín de La Plata, Buenos Aires*

Servicio de Hematología

*Hospital San Roque, Gonnet, Buenos Aires*

Dra. Victoria Canessa

Dra. Julieta Gil

Dr. Fabián Pintos

*Hospital Santojanni, Buenos Aires*

Dra. Graciela Ávila

Dra. Graciela Leone

*Hospital Vidal, Misiones*

Dr. Emilio Lanari

Dra. Ángeles Romero Maciel

*I.A.C.A. (Laboratorio de Diagnóstico), Bahía Blanca, Buenos Aires*

Dr. Arturo Gentili

Dr. Alejandro López Romero

*IICT (Laboratorio de Diagnóstico), Rosario, Santa Fe*

Dra. Susana Galeazzi

Dr. Jorge Palazzi

*Instituto de Hematología y Oncología HOPE, La Rioja*

Dr. Gabriel Campregher

*Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, Buenos Aires*

Dra. Felisa Molinas

*Instituto del Diagnóstico, Venado Tuerto, Santa Fe*

Dra. Ana Galeazzi

*Laboratorio de Especialidades Bioquímicas (LEB) (Laboratorio de Diagnóstico), Bahía Blanca, Buenos Aires*

Dra. Evangelina Agriello

Dra. María Paula Iommi

*Laboratorio de Oncohematología. Hospital de Nacional Clínicas – Universidad Nacional de Córdoba (Laboratorio de Diagnóstico), Córdoba*

Dra. Cecilia Rodríguez

*Sanatorio del Niño, Rosario, Santa Fe*

Dra. Sandra Zirone

*Sanatorio Santa Rosa, La Pampa*

Dr. Abel Alzueta

*Unidad de Inmunología e Histocompatibilidad – Laboratorio de Inmunología – Hospital General de Agudos Carlos G. Durand (Laboratorio de Diagnóstico), Buenos Aires*

Dra. María Emilia Bianco

Dr. Gabriel Orlando Carballo

Dra. Romina Guevara

Dra. Norma Viviana Novoa

Dra. Neri Alejandra Núñez

## Bibliografía

1. Parker, C., M. Omine, S. Richards, J. Nishimura, M. Bessler, R. Ware, P. Hillmen, L. Luzzatto, N. Young, T. Kinoshita, W. Rosse, and G. Socie. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*: 2005; 106:3699-3709.
2. Kinoshita, T., M. E. Medof, R. Silber, and V. Nussenzweig. Distribution of decay-accelerating factor in the peripheral blood of normal individuals and patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Exp Med*: 1985; 162:75-92.
3. Miyata, T., J. Takeda, Y. Iida, N. Yamada, N. Inoue, M. Takahashi, K. Maeda, T. Kitani, and T. Kinoshita. The cloning of PIG-A, a component in the early step of GPI-anchor biosynthesis. *Science*: 1993; 259:1318-1320.
4. Pu JJ, Brodsky RA. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria from Bench to Bedside. *Clin Trans Sci*. 2011; 4: 219-224.
5. Figueroa, J. E. and P. Densen. Infectious diseases associated with complement deficiencies. *Clin Microbiol.Rev*: 1991; 4:359-395.
6. Rother, R., L. Bell, P. Hillmen, and M. Gladwin. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. *JAMA*: 2005; 293:1653-1662.
7. May, M. E., E. E. May, R. T. Parmley, S. S. Spicer, and M. G. Buse. Renal impairment in experimental hemochromatosis in rats. *Horm.Metab Res*: 1983; 15:194-196.
8. Zachee, P., M. Henckens, D. B. Van, M. A. Boogaerts, H. Rigauts, and R. K. Verberckmoes. Chronic renal failure due to renal hemosiderosis in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Clin Nephrol*: 1993; 39:28-31.
9. Liebman HA, Feinstein DI. Thrombosis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria is associated with markedly elevated plasma levels of leukocyte derived tissue factor. *Thromb Res* 2003;111:235-8.
10. Richards, S. J. and D. Barnett. The role of flow cytometry in the diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the clinical laboratory. *Clin Lab Med*: 2007; 27:577-90, vii.
11. Battiwalla M, Heggur M, Pan D , McCarthy P.L, Ahluwalia M.S. , Camacho S.H. , Starostik P and Wallace P.K. Multiparameter Flow Cytometry for the Diagnosis and Monitoring of Small GPI-Deficient Cellular Populations. *Cytometry*. 2010; Part B (Clinical Cytometry) 78B:348-356.
12. Miller D. T. Hunsberger B.C. Bagwell C.B. Automated Analysis of GPI-Deficient Leukocyte Flow Cytometric Data Using GemStone TM. 2012; *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)* 000B:001-006
13. Sutherland R. D. 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; 1-14.
14. Borowitz, M. J., F. E. Craig, J. A. Digiuseppe, A. J. Illingworth, W. Rosse, D. R. Sutherland, C. T. Wittwer, and S. J. Richards. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom*. 2010; 78:211-230.
15. Peffault de Latour R, Mary JY, Salanoubat C, Terriou L, Etienne G, Mohy M, et al Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories. *Blood*. 2008;112: 3099-3106.
16. Hartmann RC, Jenkins DE Jr, McKee LC, Heyszel RM. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: clinical and laboratory studies relating to iron metabolism and therapy with androgen and iron. *Medicine (Baltimore)*. 1966; 45: 331-363.

17. Harrington WJ, Kolodny L, Horstman LL, Jy W, Ahn YS. Danazol for Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *American Journal of Hematology*, 1997; 54:149–154.
18. Murakawa M, Shibuya T, Harada M, Okamura T, Asano Y, Okamura Y, Niho Y. Danazol Treatment for Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Jpn J Med* 1990; 29 (4): 417-422.
19. Katayama Y, Hiramatsu Y, Kohriyama K. Monitoring of CD59 expression in PNH treated with danazol. *American Journal of Hematology*; 2001; 68: 280–283.
20. Hillmen P, Young NS, Schubert J, Brodsky RA, Socié G, Muus P, et al. The Complement Inhibitor Eculizumab in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *New Engl J Med*. 2006; 355: 1233-43.
21. Rodríguez-García J, Fernández-Santos R, García-Erce JA. Vacunación del paciente con hemoglobinuria paroxística nocturna en tratamiento con eculizumab. *Med Clin (Barc)*. 2012; 138: 640-1.
22. Hall C, Richards S, Hillmen P. Primary prophylaxis with warfarin prevents thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood*. 2003; 102: 3587-91.
23. Packard BD, Weiler JM. Steroids inhibit activation of the alternative-amplification pathway of complement. *Infect. Immun*. 1983; 40 (3): 1011-1014.
24. Weiler JM, Packard BD. Methylprednisolone inhibits the alternative and amplification pathways of complement. *Infect. Immun*. 1982; 38 (1): 122-126.
25. Vallelian F, Schaer SA, Kaempfer T, Gehrig P, Duerst E, Schoedon G, Dominik J, Schaer DJ. Glucocorticoid treatment skews human monocyte differentiation into a hemoglobin-clearance phenotype with enhanced heme-iron recycling and antioxidant capacity. *Blood*. 2010; 116 (24): 5347-5356
26. Brodsky RA, Young NS, Antonioli E, Risitano AM, Schrezenmeier H, Schubert J, 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.
27. Schrezenmeier H, Höchsmann B. Drugs that inhibit complement. *Transfusion and Apheresis Science*. 2012; 46: 87–92.
28. Parker CJ. Management of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria in the Era of Complement Inhibitory Therapy. *Hematology*. 2011: 21-24.
29. Parker C. Eculizumab for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Lancet*. 2009; 373: 759-767.
30. Dmytrijuk A, Robie-Suh K, Cohen MH, Rieves D, Weiss K, Pazdur R. FDA report: eculizumab (Soliris) for the treatment of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Oncologist*. 2008; 13 (9): 993–1000.
31. Roth A, Duhrsen U. Treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the era of eculizumab. *Eur J Haematol*. 2011; 87: 473–479.
32. Roth A, Hock C, Konik A, Christoph S, Duhrsen U. Chronic treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients with eculizumab: safety, efficacy, and unexpected laboratory phenomena. *Int J Hematol*. 2011; 93: 704–14.
33. Kelly R, Hill A, Mitchell LD, Richards SJ, Arnold LM, Valters GL, Cullen M, Cohen DR, Gregory WM, Hillmen P. Long term treatment with eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): sustained efficacy and improved survival. *Blood* 2010; 116: 639.
34. Brodsky R, de Castro C, Schrezenmeier H, et al. Long term safety and efficacy of sustained eculizumab treatment in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. (PNH). *Blood* 2010; 116:4237.
35. Brodsky R. A. How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Boood*. 2009; 113: 6522-6527.
36. Kulkarni PA, Afshar-Kharghan V. Anticomplement therapy. *Biologics: Targets & Therapy*. 2008; 2 (4): 671–685.

37. Dubois EA, Cohen AF. New Drug Mechanisms: Eculizumab. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2009; 68 (3): 318-319.
38. Hillmen P. Eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2006; 355: 2786-8.
39. Kelly R, Richards S, Hillmen P, Hill A. The pathophysiology of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and treatment with eculizumab. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2009; 5: 911-921.
40. Hill A, RP Rother, X Wang, SM Morris, K Quinn-Senger, SJ Richards, M Bessler, R Kelly, P Hillmen, and M Gladwin. 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: 414-425.
41. Berzuini A, Montanelli F, Prati D. Hemolytic anemia after eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med*. 2010; 363:993-994.
42. Risitano AM, Notaro R, Luzzatto L, Hill A, Kelly R, Hillmen P. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria- hemolysis before and after eculizumab. *N Engl J Med*. 2010; 363:2270-2272.
43. Schubert J, Hillmen P, Roth A, Young N, Elebute MO, Szer J, et al. Eculizumab, a terminal complement inhibitor, improves anaemia in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol*. 2008; 142: 263-272.
44. Kelly R, Hill A, Arnonld LM, Brooksbank GL, Richards S, Cullen M, Mitchell LD, Cohen DR, Gergory WM, and Hillmen P. Long Term Treatment with Eculizumab In Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Sustained Efficacy and Improved Survival. *Blood*: 2011; 117(25): 6786-6792.
45. Hillmen P, Muus P, Duhrsen U, Risitano AM, Schubert J, Luzzatto L, Schrezenmeier H, Szer J, Brodsky RA, Hill A, Socie G, Bessler M, Rollins SA, Bell L, Rother RP, and Young NS. Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*: 2007; 110: 4123-4128.
46. Hillmen, P., Elebute M, Kelly R, Urbano-Ispizua A, Rother R, Khursigara G, Fu CL, Browne P, and Rosse W. Long-term effect of the complement inhibitor eculizumab on kidney function in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol*: 2010; 85:553-559.
47. Hill A, Sapsford RJ, Scally A, Kelly R, Richards S, Khurisgara G, Sivananthan MU and Hillmen P. Under-recognized complications in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: raised pulmonary pressure and reduced right ventricular function. *Br J Haematol*. 2012; 158: 409-414.
48. Hillmen P, Hall C, Marsh JC, Elebute M, Bombara MP, Petro BE, Cullen MJ, Richards SJ, Rollins SA, Mojck CF, and Rother RP. Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med*: 2004; 350: 552-559.
49. Hill A, Kelly RJ, Kulasekararaj AG, et al. Eculizumab in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH): A Report of All 153 Patients Treated in the United Kingdom 10-Year Experience. *Blood*. 2012; 120: 3472.
50. Hill A, Hillmen P, Richards SJ, Elebute D, Marsh JC, Chan J, Mojck CF, and Rother RP. Sustained response and long-term safety of eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*: 2005; 106: 2559-2565.
51. Arcavi M, Ceballos M, Cantenys N, Lardo M, Brodsky A, Halperin N, Lazarowski A. Test de Ham: perfil bloqueo y su utilización en el monitoreo terapéutico con eculizumab. *Medicina (Bs. As.)*. 2012; 72 (Supl. II): 199, resumen 516.
52. Saso R, Marsh J, Cevreska L, Szer J, Gale RP, Rowlings PA, Passweg JR, Nugent ML, Luzzatto L, Horowitz MM, and Gordon-Smith EC. Bone marrow transplants for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br.J Haematol*: 1999; 104: 392-396.



53. Santarone S, Bacigalupo A, Risitano AM, Tagliaferri E, Di BE, Iori AP, Rambaldi A, Angelucci E, Spagnoli A, Papineschi F, Tamiazzo S, Di NM, and Di BP. Hematopoietic 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: 983-988.
54. Peffault de Latour RP, Schrezenmeier H, Bacigalupo A, Blaise D, de Souza CA, Vigouroux S, Willemze R, Terriou L, Tichelli A, Mohty M, de Guibert S, Marsh J, Passweg J, Mary JY, and Socié G. Allogeneic stem cell transplantation in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica*. 2012; 97 (11): 1666-1673.
55. Matos-Fernandez NA, Abou Mourad YR, Caceres W, Kharfan-Dabaja MA. Current status of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009; 15 (6): 656-61.
56. Taniguchi K, Okada M, Yoshihara S, Sawada A, Tokugawa T, Ishii S, et al. Strategy for bone marrow transplantation in eculizumab-treated paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Int J Hematol* (2011) 94: 403-407.
57. Brodsky RA. Stem cell transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica*. 2010; 95 (6): 855-6.
58. Perfault de Latour R, Schrezenmeier H, Mary JY, et al. Stem cell transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: an ongoing joint study of the AAWP EBMT group and the French Society of Hematology. *Blood*. 2008; 112: Abstract 1181.
59. Van Bijnen STA, van Heerde WL, Muus P. Mechanisms and clinical implications of thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Thromb Haemost*. 2012; 10: 1-10.
60. Ziakas PD, Poulou LS, Rokas GI, Bartzoudis D, Voulgarelis M. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: sites, risks, outcome. An overview. *J Thromb Haemost*. 2007; 5: 642-5.
61. Emadi A, Brodsky RA. Successful discontinuation of anticoagulation following eculizumab administration in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol* 2009; 84:699-701.
62. Weitz IC, Razavi P, Rochanda L, Zwicker J, Furie B, Manly D, Mackman N, Green R, Liebman HA. Eculizumab therapy results in rapid and sustained decreases in markers of thrombin generation and inflammation in patients with PNH independent of its effects on hemolysis and microparticle formation. *Thromb Res*. 2012; 130 (3): 361-368.
63. Araten DJ, Notaro R, Thaler HT, Kernan N, Boulad F, Castro-Malaspina H, et al. Thrombolytic therapy is effective in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a series of nine patients and a review of the literature. *Haematologica*. 2012; 97 (3): 344-52.
64. De Guibert S, Peffault de Latour R, Varoquaux N, Labussière H, Rio B, Jaulmes D, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and pregnancy before the eculizumab era: the French experience. *Haematologica*. 2011; 96 (9): 1276-83.
65. Ray JG, Burrows RF, Ginsberg JS, Burrows EA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and the risk of venous thrombosis: review and recommendations for management of the pregnant and nonpregnant patient. *Haemostasis* 2000; 30: 103-17.
66. Fieni S, Bonfanti L, Gramellini D, Benassi L, Delsignore R. Clinical management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in pregnancy: a case report and updated review. *Obstet Gynecol Surv* 2006; 61:593-601.
67. Kelly R, Arnold L, Richards SJ, Hill A, Bomken C, Hanley J, Loughney A, Brostoff J, Khursigara G, Rother RP, Chalmers E, Fyfe A, Fitzsimmons E, Nakamura R, Gaya A, Risitano AM, Schubert J, Norfolk D, Simpson N, and Hillmen P. The Management of Pregnancy in Paroxysmal Nocturnal Haemoglobinuria on Long Term Eculizumab. *Br J Haematology*: 2010; 149 (3): 414-425.
68. Marasca R, Coluccio V, Santachiara R, Leonardi G, Torelli G, Notaro R, Luzzatto L. Pregnancy in PNH: another eculizumab baby. *Br J Haematol* 2010; 150: 707-8.

69. Danilov AV, Smith H, Craigo S, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and pregnancy in the era of eculizumab. *Leuk Res.* 2009; 33:4- 5.
70. 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: 566-571.
71. Kelly R, Arnold LM, Richards SJ, Hill A, Bomken C, Hanley J, et al. Successful pregnancy outcome in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria on long term eculizumab. *Haematologica.* 2009; 94 (s2): 452 (abstract 1114a).



