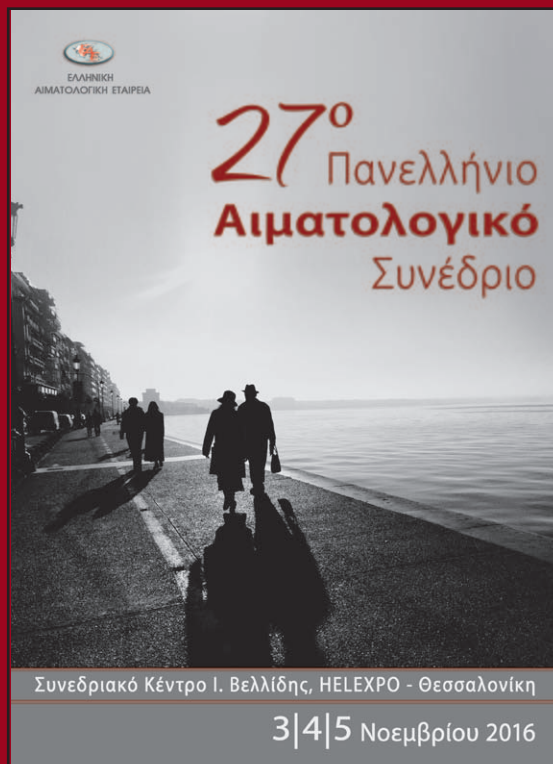


Αίμα ΗΑΕΜΙΑ

ISSN: 1108-2682

Διευθυντής Σύνταξης:
Καθηγητής Φώτης Ν. Μπερής

Συνεκδότες: Καθηγήτρια Ελένη Α. Παπαδάκη, Καθηγητής Κωνσταντίνος Τσαταλάς
Αναπληρωτής Εκδότης: Επίκουρος Καθηγητής Θεόδωρος Π. Βασιλακόπουλος



ΠΡΑΚΤΙΚΑ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ 27ου Πανελληνίου Αιματολογικού Συνεδρίου

The Journal
of the Hellenic Society of
HEMATOLOGY

Αίμα
HÆMIA

Περιοδική Έκδοση της
Ελληνικής ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΗΣ
Εταιρείας

HELLENIC SOCIETY OF HAEMATOLOGY



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ

**BOARD OF THE HELLENIC
SOCIETY OF HAEMATOLOGY**

President: Dimitrios Karakasis
Vice Presidents: Panayiotis Panayiotidis
Georgios Paterakis
General Secretary: Ioannis Baltadakis
Executive Secretary: Maria Gkanidou
Treasurer: Maria Pagoni
Members: Ioannis Batsis
Anna Kolovou
Evaggelos Terpos
Panayiotis Tsigotis

EDITOR

Photis N. Beris

Professor of Haematology
Medical School Geneva University, Switzerland
Mobile: +41 79 957 5461
e-mail: photis.beris@unilabs.com

CO-EDITORS

Helen A. Papadaki

Professor of Haematology
University of Crete School of Medicine
Head of Department of Haematology
University Hospital of Heraklion, Crete
Tel.: +30 2810 394629
Fax.: +30 2810 394632
e-mail: epapadak@med.uoc.gr

Konstantinos Tsatalas

Professor of Haematology
University Haematology Clinic
University General Hospital of Alexandroupolis
E-mail: ktsatala@med.duth.gr

ASSOCIATE EDITOR

Theodoros P. Vassilakopoulos

Assistant Professor
Haematology Clinic
National and Kapodistrian University of Athens

PAST CO-EDITORS

Nicolaos C. Zoumbos

**ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ**

Πρόεδρος: Δημήτριος Καρακάσης
Αντιπρόεδροι: Παναγιώτης Παναγιωτίδης
Γεώργιος Πατεράκης
Γεν. Γραμματέας: Ιωάννης Μπαλταδάκης
Ειδ. Γραμματέας: Μαρία Γκανίδου
Ταμίας: Μαρία Παγώνη
Μέλη: Άννα Κολοβού
Ιωάννης Μπάτσης
Ευάγγελος Τέρπος
Παναγιώτης Τσιριγώτης

ΕΚΔΟΤΗΣ

Φώτης Ν. Μπερής

Καθηγητής Αιματολογίας
Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Γενεύης
Κινητό: +41 79 957 5461
e-mail: photis.beris@unilabs.com

ΣΥΝ-ΕΚΔΟΤΕΣ

Ελένη Α. Παπαδάκη

Καθηγήτρια Αιματολογίας
Επικεφαλής Αιματολογικού Τμήματος
Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου Κρήτης
Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης
Τηλ.: 2810 394629
Fax.: 2810 394632
e-mail: epapadak@med.uoc.gr

Κωνσταντίνος Τσαταλάς

Καθηγητής Αιματολογίας
Πανεπιστημιακή Αιματολογική Κλινική
Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης
E-mail: ktsatala@med.duth.gr

ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΕΚΔΟΤΗΣ

Θεόδωρος Π. Βασιλακόπουλος

Επίκουρος Καθηγητής
Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
Αιματολογική Κλινική, ΓΝΑ Λαϊκό

ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΟΙ ΣΥΝ-ΕΚΔΟΤΕΣ

Νικόλαος Κ. Ζούμπος

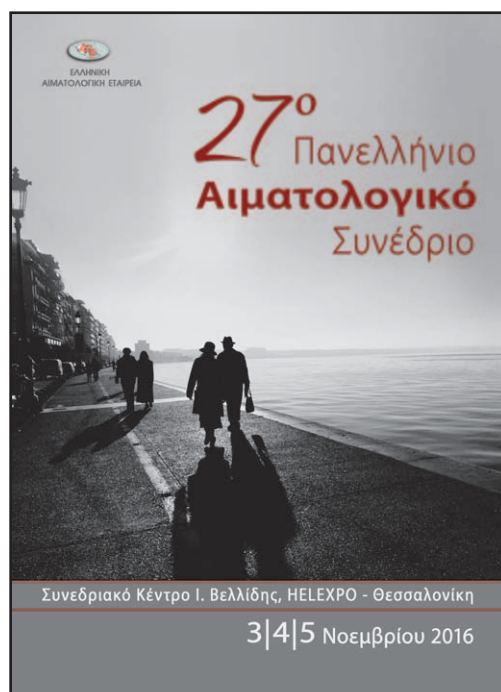
ΙΔΙΟΚΤΗΤΗΣ: Ελληνική Αιματολογική Εταιρεία, Κηφισίας 27, 115 23 Αθήνα, Τηλ.: 210 721 1806

ΓΡΑΦΕΙΟ ΕΚΔΟΣΗΣ - ΔΙΑΦΗΜΙΣΤΙΚΕΣ ΚΑΤΑΧΩΡΗΣΕΙΣ: VitaCongress - Β. Βουραζέρης & ΣΙΑ Ο.Ε., Παπαδιαμαντοπούλου 4 & Βασ. Σοφίας, 11528 Αθήνα, Τηλ.: 210.72.54.360, Fax: 210.72.54.363, E-mail: info@vitacongress.gr, http://www.vitacongress.gr

ΕΚΤΥΠΩΣΗ: ΤΕΧΝΟΓΡΑΜΜΑmed, Λ. Μεσογείων 380, 153 41 Αγία Παρασκευή, Τηλ.: +30 210 6000643, Fax: +30 210 6002295, E-mail: techn@hol.gr

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ

27⁰ ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ



Χορηγούνται 12 μόρια
Συνεχιζόμενης
Ιατρικής Εκπαίδευσης
από τον Π.Ι.Σ.
(C.M.E. Credits)

3-5 ΝΟΕΜΒΡΙΟΥ 2016
Συνεδριακό Κέντρο Ι. Βελλίδης
ΗΕΛΕΧΡΟ - Θεσσαλονίκη

ΠΡΑΚΤΙΚΑ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

Γραμματεία: **VitaCongress** Β. ΒΟΥΡΑΖΕΡΗΣ & ΣΙΑ Ο.Ε.
Παπαδιαμαντοπούλου 4 & Βασ. Σοφίας, 11528 Αθήνα, Τηλ.: 210.7254360, Fax: 210.7254363
e-mail: info@vitacongress.gr, web: www.vitacongress.gr

27th CONGRESS OF THE HELLENIC SOCIETY OF HAEMATOLOGY
 EDUCATIONAL PROGRAMME

CONTENTS

Specific disease entities of myelodysplastic and bone marrow failure syndromes

Hypoplastic Myelodysplastic syndromes.....25
Helen Solomou

Myelodysplastic syndromes with fibrosis.....32
Athanasios Galanopoulos, Dimitrios Tsokanas

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.....38
Styliani I. Kokori, Dimitrios Kalantzis, Elisavet Grouzi

AML: Beyond 3+7”

Molecular targeted therapies.....47
George Georgiou

Minimal residual disease directed therapy in AML56
Ifigeneia A. Tzannou, Maria N. Pagoni

Recent advances in Lymphoid Malignancies

Molecular diagnostics in lymphomas: what do we need today?67
Maria Dimou, Panayiotis Panayiotidis

New treatment strategies in multiple myeloma.....75
Efstathios Kastritis, Evangelos Terpos, Meletios-Athanasios Dimopoulos

Therapeutic developments in peripheral T cell lymphomas.....85
Maria K. Angelopoulou, Iliana Konstantinou, Theodoros P. Vassilakopoulos

Specific laboratory findings puzzling the Hematologist

Hypogammaglobulinemia99
Ioannis Kakkas

Hyperferritinemia..... 107
Anna Kioumi, Smaragda Efraimidou, Vasilios Papadopoulos

Cell clones..... 118
Georgios Paterakis

27° ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ
ΠΡΑΚΤΙΚΑ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ιδιαίτερες οντότητες Μυελοδυσπλαστικών Συνδρόμων και Συνδρόμων Μυελικής Ανεπάρκειας

Υποπλαστικά Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα.....25
Έλενα Σολωμού

Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα με ίνωση.....32
Αθανάσιος Γαλανόπουλος, Δημήτριος Τσοκάνας

Παροξυντική Νυκτερινή Αιμοσφαινουρία.....38
Στυλιανή Ι. Κοκρόρη, Δημήτριος Καλαντζής, Ελισάβετ Γρουζή

Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία: Μετά το «3+7» τι; Αναδυόμενες νέες θεραπευτικές επιλογές

Στοχεύοντας μοριακές βλάβες.....47
Γεώργιος Γεωργίου

Ο ρόλος της MRD στο θεραπευτικό σχεδιασμό της ΟΜΛ.....56
Ιφιγένεια Α. Τζάννου, Μαρία Ν. Παγώνη

Πρόσφατες εξελίξεις στις νεοπλασίες του λεμφικού ιστού

Μοριακή διαγνωστική στα λεμφώματα: Τι χρειάζεται σήμερα;.....67
Μαρία Δήμου, Παναγιώτης Παναγιωτίδης

Νέες θεραπευτικές στρατηγικές στο πολλαπλούν μυέλωμα.....75
Ευστάθιος Καστρίτης, Ευάγγελος Τέρπος, Μελέτιος-Αθανάσιος Δημόπουλος

Θεραπευτικές εξελίξεις στα περιφερικά T-λεμφώματα.....85
Μαρία Κ. Αγγελοπούλου, Ηλιάνα Κωνσταντίνου, Θεόδωρος Π. Βασιλακόπουλος

Ειδικά εργαστηριακά ευρήματα που προβληματίζουν τον αιματολόγο

Υπογαμμασφαιριναιμία.....99
Ιωάννης Κάκκας

Υπερφερριτιναιμία.....107
Άννα Κιουμή, Σμαράγδα Ευφραιμίδου, Βασίλειος Παπαδόπουλος

Κλωνικοί κυτταρικοί πληθυσμοί.....118
Γεώργιος Πατεράκης

Latest genetic data in Rare Anemias and in Thalassemia

Congenital Dyserythropoietic Anemia..... 125
Evangelos Premetis

Sideroblastic Anemia 133
Ioannis Asimakopoulos, Marianna Politou

Genetic modifiers of Haemoglobin F production and their impact to clinical heterogeneity of b-halassaemia and development of new therapeutic approaches 141
Aggeliki Balassopoulou

Blood donation Transfusion practice optimisation

Patient Blood Management Implementation Programs..... 149
Aspasia Argyrou, Anthi Gafou, Elisavet Grouzi

Red Blood Cell transfusion in hematological diseases – therapeutic goals 157
Marina Karakantza

Platelet Transfusion in hypoplastic thrombocytopenia – therapeutic goals..... 164
Stamatis Karakatsanis

Allogeneic Transplantation and Acute Myeloid Leukaemia: Standard indications and individualized approach

Patient eligibility: evaluation methods and relevant therapeutic decisions..... 172
Panagiotis Tsirigotis, Konstantinos Gkirkas, Maria Stamouli

Minimal residual disease: its role in transplantation decision and transplant plan..... 182
Zoi Boussiou, Ioannis Batsis

Missing Fully matched donor: Transplantation with alternative donor? When and how? 188
Aikaterini Kaisari, Christina Oikonomopoulou, Ioulia Peristeri

Coagulation disorders in selected patients

Thrombosis in neonatals and childhood..... 198
Anna Komitoupou, Helen Platokouki

Acquired bleeding tendency in the elderly 206
Anna Kourampa

Haemostatis in liver disease - new insights 213
Efrosyni Nomikou

Σπανιότερες αναιμίες και νεώτερα γενετικά δεδομένα στη θαλασσαιμία

Συγγενείς Δυσερυθροποιητικές Αναιμίες..... 125
Ευάγγελος Πρεμέτης

Σιδηροβλαστική Αναμία..... 133
Ιωάννης Ασημακόπουλος, Μαριάννα Πολίτου

Γενετικοί τροποποιητές της έκφρασης της εμβρυικής αιμοσφαιρίνης - Η επίπτωσή τους στην κλινική ετερογένεια και τις θεραπευτικές προοπτικές της β-θαλασσαιμίας..... 141
Αγγελική Μπαλασοπούλου

Σύγχρονη προσέγγιση της βελτιστοποίησης της πρακτικής μετάγγισης

Προγράμματα Διαχείρισης Μεταγγίσεων (Patients Blood Management, PBM) 149
Ασπασία Αργυρού, Ανθή Γάφου, Ελισάβετ Γρουζή

Μεταγγίσεις ερυθρών σε αιματολογικούς ασθενείς – Θεραπευτικοί στόχοι 157
Μαρίνα Καρακάντζα

Μετάγγιση αιμοπεταλίων στην υποπλαστικού τύπου θρομβοπενία - Θεραπευτικοί στόχοι..... 164
Σταμάτης Καρακατσάνης

Αλλογενής μεταμόσχευση στις οξείες λευχαιμίες: Καθιερωμένες ενδείξεις και εξατομικευμένη προσέγγιση

Καταλληλότητα του ασθενούς για μεταμόσχευση: Μέθοδοι εκτίμησης και ανάλογες θεραπευτικές αποφάσεις.... 172
Παναγιώτης Τσιριγώτης, Κωνσταντίνος Γκίρκας, Μαρία Σταμούλη

Ελάχιστη Υπολειμματική Νόσος: Η σημασία της για την επιλογή και το σχεδιασμό της μεταμόσχευσης..... 182
Ζωή Μπούσιου, Ιωάννης Μπάτσης

Μη ύπαρξη πλήρως συμβατού δότη: Μεταμόσχευση από εναλλακτικό δότη; Ποιον και πότε..... 188
Αικατερίνη Καίσαρη, Χριστίνα Οικονομοπούλου, Ιουλία Περιστέρη

Διαταραχές αιμόστασης σε επιλεγμένους ασθενείς

Θρόμβωση στη νεογνική και παιδική ηλικία..... 198
Άννα Κομιτοπούλου, Ελένη Πλατοκούκη

Επίκτητη αιμορραγική διάθεση στον ηλικιωμένο ασθενή..... 206
Άννα Κουραμπά

Διαταραχές αιμόστασης στον ηπατοπαθή ασθενή – Νεώτερα δεδομένα..... 213
Ευφροσύνη Νομικού

ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ ΕΑΕ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Πρόεδρος: Δημήτριος Καρακάσης

Αντιπρόεδροι: Παναγιώτης Παναγιωτίδης
Γεώργιος Πατεράκης

Γεν. Γραμματέας: Ιωάννης Μπαλταδάκης

Ειδικός Γραμματέας: Μαρία Γκανίδου

Ταμίας: Μαρία Παγώνη

Μέλη: Άννα Κολοβού
Ιωάννης Μπάτσης
Ευάγγελος Τέρπος
Παναγιώτης Τσιριγώτης

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Πρόεδρος: Ελένη Παπαδάκη

Γραμματέας: Ιωάννης Μπαλταδάκης

Μέλη: Σερένα Βαλσάμη
Έρση Βοσκαρίδου
Ευφροσύνη Νομικού
Μαρία Παγώνη
Βασιλική Παππά
Γεώργιος Πατεράκης
Νίκη Σταυρογιάννη
Μαρία Τσιρογιάννη

[http: www.eae.gr](http://www.eae.gr)
e-mail: info@eae.gr

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΚΡΙΣΕΩΣ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

Αναστασία Αθανασιάδου
 Ιωάννης Αποστολίδης
 Νίκη Βγόντζα
 Ευθυμία Βλαχάκη
 Έρση Βοσκαρίδου
 Αθηνά-Νόρα Βύνιου
 Μαρία Γαβαλάκη
 Βασιλεία Γαρυπίδου
 Ανθή Γάφου
 Νίκος Γιαννακούλας
 Σταύρος Γιγάντες
 Ελένη Γκουμάκου
 Σωσάνα Δεληήμπαση
 Σταματία Θεοδωρίδου
 Χριστίνα Καλπαδάκη

Αντώνης Καττάμης
 Ειρήνη Κατωδρύτου
 Στυλιανή Κοκόρη
 Φλώρα Κοντοπίδου
 Μαρία-Χριστίνα Κυρτσώνη
 Δώρα Κωστελίδου
 Μαρία Κωτσοπούλου
 Μαρία Λίγκα
 Αλέξανδρος Μάκης
 Δέσποινα Μαλλουρή
 Θεόδωρος Μαρινάκης
 Δήμητρα Μαρκάλα
 Γεώργιος Μαρτίνης
 Αικατερίνη Μεγαλακάκη
 Παναγιώτης Παναγιωτίδης

Σωτήρης Παπαγεωργίου
 Εμμανουήλ Παπαδάκης
 Βασιλική Παππά
 Μαριάννα Πολίτου
 Χαράλαμπος Ποντίκογλου
 Μαρία Σταμούλη
 Νίκη Σταυρογιάννη
 Αργύρης Συμεωνίδης
 Δαμιανός Σωτηρόπουλος
 Ευάγγελος Τέρπος
 Βασίλειος Τσεβρένης
 Μαρία Τσιρογιάννη
 Ελευθερία Χατζημιχαήλ

ΔΕΥΤΕΡΟΒΑΘΜΙΑ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΚΡΙΣΕΩΣ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

Πρόεδρος: Ελένη Παπαδάκη

Μέλη: Ιωάννης Αποστολίδης
 Έρση Βοσκαρίδου
 Αθηνά-Νόρα Βύνιου
 Μαρία Γαβαλάκη
 Βασιλεία Γαρυπίδου
 Δημήτριος Καρακάσης
 Δήμητρα Μαρκάλα
 Ιωάννης Μπαλταδάκης
 Νίκη Σταυρογιάννη
 Δαμιανός Σωτηρόπουλος
 Ευάγγελος Τέρπος

**ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΕΠΑΘΛΟΥ «ΑΡΚΑΓΑΘΟΣ ΓΟΥΤΤΑΣ»
 & ΒΡΑΒΕΙΟΥ ΝΕΟΥ ΕΡΕΥΝΗΤΗ «ΦΑΙΔΩΝ ΦΕΣΣΑΣ»**

Πρόεδρος: Κωνσταντίνος Κωνσταντόπουλος

Μέλη: Ελένη Καψάλη
 Μαρία Παπαϊωάννου
 Βασιλική Παππά
 Ευαγγελία Τζουβάρα

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΒΡΑΒΕΥΣΗΣ ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΩΝ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΩΝ

Πρόεδρος: Ελένη Παπαδάκη

Μέλη: Έρση Βοσκαρίδου
Αθηνά-Νόρα Βύνιου
Μαρία Γαβαλάκη
Βασιλεία Γαρυπίδου
Δέσποινα Μαλλουρή
Δήμητρα Μαρκάλα
Νίκη Σταυρογιάννη
Δαμιανός Σωτηρόπουλος
Ευάγγελος Τέρπος

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΕΚΔΟΣΗΣ ΠΡΑΚΤΙΚΩΝ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

Υπεύθυνος Σύνταξης: Ευάγγελος Τέρπος

Μέλη: Σερένα Βαλσάμη
Έρση Βοσκαρίδου
Βασιλεία Γαρυπίδου
Ελισάβετ Γρουζή
Μαρία Δήμου
Παναγιώτης Διαμαντόπουλος
Όλγα Κατσαρού
Ελπινίκη Κρητικού-Γρίβα
Δημήτριος Λουκόπουλος
Στέφανος Παπαδημητρίου
Μαρία Παπαϊωάννου
Ιωάννα Σακελλάρη
Αλέξανδρος Σπυριδωνίδης
Παναγιώτης Τσιριγώτης
Ευδοξία Χατζηχαρίση

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΤΜΗΜΑΤΑ

ΤΜΗΜΑ ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ-ΑΦΑΙΡΕΣΗΣ

Πρόεδρος: Μαρία Γαβαλάκη
Αντιπρόεδρος: Ελισάβετ Γρουζή
Γραμματέας: Σερένα Βαλσάμη
Μέλη: Ασπασία Αργυρού
Κωνσταντίνα Πανέτα

ΤΜΗΜΑ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ

Πρόεδρος: Ευφροσύνη Νομικού
Αντιπρόεδρος: Παρασκευή Κώτση
Γραμματέας: Βασίλειος Τσεβρένης
Μέλη: Στυλιανή Κοκόρη
Θεοδώρα Κωστελίδου

ΤΜΗΜΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ & ΕΛΕΓΧΟΥ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Πρόεδρος: Γεώργιος Πατεράκης
Αντιπρόεδρος: Ιωάννης Κάκκας
Γραμματέας: Άννα Ταπάρκου
Μέλη: Ματθαίος Σπελέτας
Κατερίνα Φοίφα

ΤΜΗΜΑ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΟΥ & ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΠΑΘΕΙΩΝ

Πρόεδρος: Έρση Βοσκαρίδου
Αντιπρόεδρος: Σταματία Θεοδωρίδου
Γραμματέας: Ιωάννης Παπασωτηρίου
Μέλη: Ευθυμία Βλαχάκη
Ευτύχιος Ευτυχιάδης

ΤΜΗΜΑ ΛΕΜΦΟΪΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΩΝ ΝΟΣΩΝ

Πρόεδρος: Αχιλλέας Αναγνωστόπουλος
Αντιπρόεδρος: Νίκη Σταυρογιάννη
Γραμματέας: Ευάγγελος Τέρπος
Μέλη: Θεόδωρος Βασιλακόπουλος
Ευδοξία Χατζηχαρίση

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΤΜΗΜΑΤΑ**ΤΜΗΜΑ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗΣ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

Πρόεδρος: Αλέξανδρος Σπυριδωνίδης
Αντιπρόεδρος: Μαρία Τσιρογιάννη
Γραμματέας: Δέσποινα Μαλλουρή
Μέλη: Ιωάννης Μπαλταδάκης
Παναγιώτα Παπαϊωάννου

ΤΜΗΜΑ ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΝΔΡΟΜΩΝ & ΜΥΕΛΙΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ

Πρόεδρος: Αργύρης Συμεωνίδης
Αντιπρόεδρος: Ιωάννης Κοτσιανίδης
Γραμματέας: Αθανάσιος Γαλανόπουλος
Μέλη: Αθηνά-Νόρα Βύνιου
Βασιλική Παππά

ΤΜΗΜΑ ΟΞΕΙΩΝ ΛΕΥΧΑΙΜΙΩΝ & ΜΥΕΛΟΪΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΩΝ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ

Πρόεδρος: Μαρία Παγώνη
Αντιπρόεδρος: Δαμιανός Σωτηρόπουλος
Γραμματέας: Παναγιώτης Τσιριγώτης
Μέλη: Σταύρος Γιγάντες
Παναγιώτης Παναγιωτίδης

ΤΜΗΜΑ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ-ΘΡΑΚΗΣ

Πρόεδρος: Ιωάννα Σακελλάρη
Αντιπρόεδρος: Δήμητρα Μαρκάλα
Γραμματέας: Ειρήνη Κατωδρύτου
Μέλη: Αναστασία Μπαντή
Γεώργιος Παπαϊωάννου

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Αγαπητοί συνάδελφοι,

Τα πρακτικά του εκπαιδευτικού προγράμματος του Πανελληνίου Αιματολογικού Συνεδρίου μας αποτελούν πλέον μια καταξιωμένη έκδοση, χρήσιμη σε νεότερους και εμπειρότερους Αιματολόγους αλλά και συναδέλφους που ασχολούνται με αιματολογικά νοσήματα, εργαστηριακές εξετάσεις και την ιατρική των μεταγίσεων. Το Δ.Σ. της Ε.Α.Ε. προσπαθεί συνεχώς για την επιστημονικά άρτια και ποιοτικά υψηλών προδιαγραφών έκδοση, με βάση κριτήρια που χρησιμοποιούνται από αντίστοιχες εκδόσεις μεγάλων διεθνών συνεδρίων.

Έτσι και φέτος, μετά την επιλογή των θεμάτων από την επιστημονική επιτροπή και την επιλογή των ομιλητών, στάλθηκαν σε αυτούς οι οδηγίες συγγραφής των άρθρων καθώς και τα χρονοδιαγράμματα αποστολής τους στη σύνταξη. Επιπρόσθετα, έγινε κρίση των άρθρων αυτών από δυο κριτές, μέλη της Ε.Α.Ε., συναδέλφους με μεγάλη εμπειρία και ενασχόληση με τα αντίστοιχα γνωστικά αντικείμενα. Μετά τη λήψη των κρίσεων, οι συγγραφείς έστειλαν τις τελικές μορφές των κειμένων για μια ακόμη κρίση μέχρι την τελική μορφή τους που θα δείτε στον τόμο αυτό.

Από τη θέση του υπευθύνου της σύνταξης θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους συναδέλφους που βοήθησαν στη δημιουργία αυτού του πονήματος. Πρώτα από όλους, τους συγγραφείς των άρθρων για την εξαιρετική συνεργασία και την ανοχή τους στις πιέσεις που πολλές φορές δέχτηκαν από μένα για την πλήρη εφαρμογή των όρων που είχαν τεθεί από την επιστημονική επιτροπή για τη δημιουργία του κάθε άρθρου. Μέσα στον περιορισμένο ελεύθερο χρόνο που όλοι έχουμε, λόγω των κλινικοεργαστηριακών μας υποχρεώσεων, οι συγγραφείς των άρθρων κατέβαλαν μεγάλη προσπάθεια για την παραγωγή άρτια επιστημονικά κειμένων σε σύντομο χρονικό διάστημα καθώς και για την έγκαιρη αποστολή τους για τη διαδικασία που περιέγραψα πριν. Τους ευχαριστώ θερμά γι' αυτό. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω από καρδιάς τους κριτές των κειμένων που με τα εποικοδομητικά τους σχόλια και την εμπειρία τους βοήθησαν στη βελτίωση των άρθρων ώστε αυτά να λάβουν την τελική τους μορφή με τον αρτιότερο δυνατό τρόπο.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επιστημονική Επιτροπή του Συνεδρίου για την υποστήριξή της σε όλα τα βήματα της έκδοσης αυτής, καθώς και την κα Νάσια Τσούγια από τη VitaCongress για τη γραμματειακή της υποστήριξη και την υπομονή της στις απαιτήσεις όλων μας που ασχοληθήκαμε με την έκδοση του τόμου αυτού.

Ελπίζω ο εκπαιδευτικός αυτός τόμος να σας φανεί χρήσιμος κατά την άσκηση της καθημερινής σας κλινικής πρακτικής.

Με φιλικούς χαιρετισμούς

Ευάγγελος Τέρπος

Αιματολόγος

Υπεύθυνος Σύνταξης

Υποπλαστικά Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα

ΕΛΕΝΑ ΣΟΛΩΜΟΥ

Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας-Αιματολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Πατρών

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα αποτελούν ετερογενή ομάδα νοσημάτων τα οποία χαρακτηρίζονται από μη αποδοτική αιμοποίηση, κυτταροπενίες στο αίμα, και αυξημένο κίνδυνο εξέλιξης σε οξεία λευχαιμία. Παρά την πρόοδο στην κατανόηση του νοσήματος λίγα ακόμα είναι γνωστά όσον αφορά την αιτιολογία και την παθογένεια του νοσήματος αυτού που σε ποσοστό 20-30% είναι δυνατό να εξελιχθεί σε οξεία μυελογενή λευχαιμία¹.

Το ΜΔΣ πιστεύεται ότι προκύπτει από τη συσσώρευση γενετικών ή και επιγενετικών διαταραχών που εμφανίζονται αρχικά σε ένα ανώριμο-προγονικό κύτταρο. Το κύτταρο αυτό εμφανίζει ένα πολλαπλασιαστικό πλεονέκτημα του κλώνου του που προκύπτει, σε σχέση με τα φυσιολογικά προγονικά κύτταρα. Τα κύτταρα του παθολογικού αυτού κλώνου εμφανίζουν επίσης διαταραχές στη τελική διαφοροποίησή τους, και αυξημένη απόπτωση. Αυτά τα δύο χαρακτηριστικά πιθανά να εξηγούν την αυξημένη κυτταροβρίθεια στον μυελό και τις κυτταροπενίες στο αίμα².

Οι γενετικές, οι επιγενετικές, και οι μέσω του ανοσοποιητικού συστήματος αλλαγές που επέρχονται στα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα με την πρόοδο της ηλικίας, οδηγούν σε ολιγοκλωνική έκπτυξη των αρχικά εμφανιζομένων μυελοδυσπλαστικών κυττάρων. Το μικροπεριβάλλον του μυελού και οι διαταραχές στο ανοσοποιητικό σύστημα συμβάλλουν επιπλέον στην απορρύθμιση και την επικράτηση του παθολογικού κλώνου. Τα συγγενή σύνδρομα ανεπάρκειας μυελού των οστών, όπως η αναιμία Fanconi (FA), η συγγενής δυσκεράτωση (dyskeratosis congenita), το σύνδρομο Down και οι ενδογενείς διαταραχές των αιμοπεταλίων

(που συνδέονται με μεταλλάξεις του RUNX1 ή του CEBPa) προδιαθέτουν για ΜΔΣ/ΟΜΛ.

Η μέση ηλικία κατά τη διάγνωση του ΜΔΣ είναι περίπου τα 70 έτη. Η συχνότητα εμφάνισης είναι 4 έως 5 νέες περιπτώσεις ανά 100.000 άτομα ανά έτος. Η αιτιολογία είναι γενικά άγνωστη, αλλά σημαντικός φαίνεται να είναι ο ρόλος της έκθεσης σε περιβαλλοντικούς, χημικούς, και φυσικούς μεταλλαξιογόνους παράγοντες. Σε 15 έως 20% των περιπτώσεων, τα ΜΔΣ είναι δευτεροπαθή (secondary MDS), εμφανίζονται δηλαδή μετά από προηγούμενα χημειοθεραπεία ή/και ακτινοθεραπεία για προηγούμενη συνήθως κακοήθεια. Ενοχοποιούνται επίσης η έκθεση στο βενζόλιο, ή σε άλλους αρωματικούς υδρογονάνθρακες, όπως και τα φυτοφάρμακα^{2,3}.

Τα ΜΔΣ έλαβαν μια ποικιλία από ονοματολογίες, μέχρι την πρώτη διεθνή κατάταξη από τη γαλλική-αμερικανική-αγγλική κατάταξη (FAB) το 1982. Η ταξινόμηση αυτή είχε τελειοποιηθεί το 2001, και στη συνέχεια, το 2008, έγινε η κατάταξη κατά WHO με την ενσωμάτωση νέων προγνωστικών παραγόντων σε ασθενείς με ΜΔΣ⁴⁻⁶. Φέτος μετά την δημοσίευση διαφορών μοριακών διαταραχών που συνοδεύουν τα ΜΔΣ γίνεται προσπάθεια για επαναταξινόμηση των ΜΔΣ (όπως φαίνεται στον πίνακα 1). Για να μπορέσει να γίνει η διάγνωση των ΜΔΣ πρέπει να πληρούνται τρία τουλάχιστον κριτήρια: 1) επίμονη (>6 μήνες) και σημαντική κυτταροπενία (Hb <10 g/dL, απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων <1,8 g/L, αιμοπετάλια <100 g/l), 2) δυσπλασία μίας ή περισσότερων σειρών του μυελού των οστών ή παρουσία χαρακτηριστικής κυτταρογενετικής ανωμαλίας, και 3) τον αποκλεισμό αιτιών που συνδέονται με δυσπλασία (δευτεροπαθή μυελοδυσπλαστικά)^{5,6} (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Νέα κατάταξη ΜΔΣ βάσει WHO.

WHO 2008	WHO 2016	Περιφερικό Αίμα	Μυελός	Αλλαγές
Ανθεκτική αναιμία με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (RARS)	ΜΔΣ με δυσπλασία σε μόνο μια σειρά και δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες	Αναιμία Οχι βλάστες Οχι ραβδία Auer	Δυσερυθροποίηση <5% Βλάστες >15% Δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες	Περιλαμβάνει είτε $\geq 15\%$ δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες ή $>5\%$ δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες και μετάλλαξη στο SF3B1
Ανθεκτική αναιμία με δυσπλασία μόνο σε μία σειρά (RCUD-ANT)	ΜΔΣ με δυσπλασία σε μόνο μια σειρά (MDS-SLD, MDS with single lineage dysplasia)	Αναιμία ή πενίες σε δύο σειρές Οχι βλάστες Οχι ραβδία Auer <1 G/L μονοκύτταρα	Μόνο μία σειρά με $>10\%$ δυσπλαστικά κύτταρα <5% Βλάστες <15% Δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες	
Ανθεκτική αναιμία με δυσπλασία σε περισσότερες από μια σειρές (RCMD)	ΜΔΣ με δυσπλασία σε περισσότερες από μια σειρές (MDS-MLD, MDS with multi lineage dysplasia)	Κυτταροπενίες = 1% βλάστες Οχι ραβδία Auer <1 G/L μονοκύτταρα	Δύο τουλάχιστον σειρές με $>10\%$ δυσπλαστικά κύτταρα <5% Βλάστες <15% Δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες Οχι ραβδία Auer	
ΜΔΣ με del5q	ΜΔΣ με del5q	Κυτταροπενίες = 1% βλάστες Οχι ραβδία Auer <1 G/L μονοκύτταρα	Δύο τουλάχιστον σειρές με $>10\%$ δυσπλαστικά κύτταρα <5% Βλάστες <15% Δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες Οχι ραβδία Auer	Περιλαμβάνει είτε $\geq 15\%$ δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες ή $>5\%$ δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες και μετάλλαξη στο SF3B1
ΜΔΣ που δεν εμπίπτει σε άλλη κατηγορία (MDS unclassified, MDS-U)	3 κατηγορίες: • ΜΔΣ με δυσπλασία σε μόνο μια σειρά με πανκυτταροπενία (MDS-SLD and pancytopenia) • MDS-SLD ή ΜΔΣ με 1% βλάστες στο αίμα • ΜΔΣ χωρίς εμφανή δυσπλασία αλλά με κυτταρογενετικές ανωμαλίες που εμφανίζονται σε ΜΔΣ	Αναιμία ή αναιμία και λευκοπενία Φυσιολογικός αριθμός ή αυξημένα αιμοπετάλια <1% βλάστες Κυτταροπενία	<5% Βλάστες Οχι ραβδία Auer Δυσπλαστικά ΜΚΚ	Επιτρέπεται άλλη μία χρωμοσωμική ανωμαλία (όχι Χρωμ. 7) Προτινότερη εξέταση για μετάλλαξη r53 Περιπτώσεις με σημαντική δυσπλασία μυελικής σειράς αποκλείονται
Ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών (RAEB 1)	ΜΔΣ με περίσσεια βλαστών (MDS-EB1)	Κυτταροπενίες <5% βλάστες Οχι ραβδία Auer <1 G/L μονοκύτταρα	Δυσπλασία σε μία ή περισσότερες σειρές Οχι ραβδία Auer 5-9% βλάστες	Περιλαμβάνει τις περισσότερες περιπτώσεις ερυθρολευχαιμίας Κατατάσσεται σε EB1 ή EB2 ανάλογα με το % βλαστών στο συνολικό αριθμό των κυττάρων του μυελού
Ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών (RAEB 2)	ΜΔΣ με περίσσεια βλαστών (MDS-EB2)	Κυτταροπενίες 5-19% βλάστες Μπορεί να υπάρχουν ραβδία Auer <1 G/L μονοκύτταρα	Δυσπλασία σε μία ή περισσότερες σειρές Μπορεί να υπάρχουν ραβδία Auer 10-19% βλάστες	Περιλαμβάνει τις περισσότερες περιπτώσεις ερυθρολευχαιμίας Κατατάσσεται σε EB1 ή EB2 ανάλογα με το % βλαστών στο συνολικό αριθμό των κυττάρων του μυελού
	Ανθεκτική αναιμία με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες και θρομβοκυττάρωση (RARS-T)	Αναιμία Οχι βλάστες ≥ 450.000 αιμοπετάλια	Δυσπλασία ερυθράς σειράς μόνο <5% βλάστες >15% δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες Πολυπλασιασμός μεγάλων ΜΚΚ	Ξεχωριστή κατηγορία πλέον Πρέπει να απειλεί διάνωση εξ αρχής και όχι εξέλιξη από MDS-RS συνήθως συνυπάρχει μετάλλαξη JAK2 και SF3B1

Υποπλαστικά ΜΔΣ

Τα υποπλαστικά ΜΔΣ (υΜΔΣ) αποτελούν ένα μικρό ποσοστό των ΜΔΣ, και αναφέρονται σε εκείνες τις περιπτώσεις όπου εκτός από τις χαρακτηριστικές μορφολογικές διαταραχές με τις οποίες τίθεται η διάγνωση του ΜΔΣ, συνυπάρχει και χαμηλή κυτταροβρίθεια του μυελού σε σχέση με την ηλικία (<30% κυτταροβρίθεια σε ηλικία <60 ετών ή <20% κυτταροβρίθεια αν η ηλικία είναι >60 ετών). Τα υποπλαστικά ΜΔΣ αντιπροσωπεύουν περίπου 10 έως 20% όλων των περιπτώσεων ΜΔΣ⁷⁻⁹. Ωστόσο, τα υΜΔΣ δεν αντιπροσωπεύουν μια ξεχωριστή κατηγορία ΜΔΣ σύμφωνα με την ταξινόμηση του WHO, αλλά στην πλειονότητα των περιπτώσεων ταξινομούνται ως ανθεκτική αναιμία. Συνήθως αφορά πιο νέα άτομα, και ίσως πιο συχνά γυναίκες. Ο παθολογικός καρυότυπος δεν ανευρίσκεται συχνά στους ασθενείς αυτούς σε σύγκριση με ασθενείς με τους υπόλοιπους υπότυπους ΜΔΣ με υπερκυτταρικό μυελό. Επίσης φαίνεται ότι οι ασθενείς με υΜΔΣ έχουν καλύτερη προγνώση και μεγαλύτερη συνολική επιβίωση συγκριτικά με τους ασθενείς με ΜΔΣ και νορμο-/υπερ- κυτταρικό μυελό.

Υποπλαστικά ΜΔΣ και απλαστική αναιμία

Φαίνεται ότι υπάρχουν πολλές ομοιότητες των υΜΔΣ με την απλαστική αναιμία και αυτό συχνά κάνει δύσκολη τη διαφορική διάγνωση⁹. Τόσο τα υΜΔΣ όσο και η απλαστική αναιμία μοιράζονται κοινούς παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς και διαταραχές στο ανοσοποιητικό σύστημα που φαίνεται να έχουν πρωτεύοντα ρόλο στην παθογένεια τους. Η διαφορική διάγνωση μεταξύ απλαστικής αναιμίας και υΜΔΣ βασίζεται κυρίως στην παρουσία στοιχείων δυσπλασίας τόσο στη μυελική όσο και στη μεγακαρυοκυτταρική σειρά, αυξημένο ποσοστό βλαστών, και μη φυσιολογικό καρυότυπο, που όλα αυτά ευνοούν τη διάγνωση του υΜΔΣ και όχι της απλαστικής αναιμίας. Επιπλέον, ανωμαλίες στην έκφραση επιφανειακών αντιγόνων στα CD34+ κύτταρα του μυελού ενδεικτικό παρουσίας κλώνου, καθώς και αυξημένη παραγωγή ερυθροβλαστών με αιμοσφαιρίνη F, συνηγορούν υπέρ της διάγνωσης του υΜΔΣ. Ωστόσο, ευρήματα συμβατά με μία ανοσολογική διεργασία που σχετίζεται με σχετική λεμφοκυττάρωση στο μυελό και ολιγοκλωνική έκπτυξη των T λεμφοκυττάρων, καθώς και αυξημένα επίπεδα κυτοκινών (IFN- γ κυρίως) δεν μπορούν να βοηθήσουν στη διαφορική διάγνωση καθώς αυτά τα στοιχεία είναι παρόντα και στις δύο νόσους. Η αλληλοεπικάλυψη των διαταραχών ανοσολογικής αρχής δείχνει ότι τα υΜΔΣ και η απλαστική αναιμία μοιράζονται κοινή παθοφυσιολογία που πιθανά να

σχετίζεται με ένα άγνωστο μέχρι στιγμής αντιγόνο. το οποίο διεγείρει τα T λεμφοκύτταρα^{10,11}.

Η παρουσία PNH κλώνου, επίσης είναι δυνατό να παρατηρηθεί τόσο στην απλαστική αναιμία όσο και σε υΜΔΣ¹²⁻¹⁴. PNH κλώνος είναι δυνατό να παρατηρηθεί σε έως και 20% των περιπτώσεων ΜΔΣ, αλλά και σε μεγάλο ποσοστό ασθενών με απλαστική αναιμία. Σε ασθενείς με ΜΔΣ, ο PNH κλώνος εμφανίζεται κυρίως σε ασθενείς με χαμηλού κινδύνου ΜΔΣ. Η ύπαρξη του κλώνου αυτού συνήθως σχετίζεται με καλύτερη ανταπόκριση στην ανοσοκατασταλτική θεραπεία, ενώ ασθενείς με ΜΔΣ και PNH κλώνο σχετίζονται με λιγότερο έντονα δυσπλαστικά μορφολογικά στοιχεία, συνήθως δεν έχουν παθολογικό καρυότυπο, και δύσκολα εξελίσσονται σε οξεία μυελογενή λευχαιμία. Εντούτοις, η παρουσία του κλώνου αυτού δεν αφορά μόνο τα υΜΔΣ, αλλά μπορεί να εμφανιστεί και σε άλλους τύπους ΜΔΣ.

Η απλαστική αναιμία και τα υΜΔΣ μπορεί επίσης να μοιράζονται γενετικές ανωμαλίες. Μεταλλάξεις σε γονίδια που κωδικοποιούν το σύμπλοκο της τελομεράσης, που είναι υπεύθυνο για τη διατήρηση του μήκους των τελομερών, έχει ως αποτέλεσμα την υπερβολική βράχυνση των τελομερών στα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα, και θεωρούνται αιτιολογικοί παράγοντες στη συγγενή δυσκεράτωση, και σε συγγενή σύνδρομο ανεπάρκειας του μυελού. Είναι δυνατό να παρατηρηθούν επίσης σε ορισμένες περιπτώσεις απλαστικής αναιμίας. Οι ασθενείς με συγγενή δυσκεράτωση έχουν μεγάλη πιθανότητα για εξέλιξη σε ΜΔΣ και οξεία λευχαιμία, ενώ οι ασθενείς με απλαστική αναιμία και μεταλλάξεις στα γονίδια του συμπλόκου της τελομεράσης επίσης συχνά εξελίσσονται σε υΜΔΣ και οξεία λευχαιμία. Οι ασθενείς με απλαστική αναιμία με μικρότερα τελομερή είναι εκείνοι που έχουν υψηλότερο κίνδυνο να εξελιχθούν σε υΜΔΣ, ειδικά με μονοσωμία 7. Σε ένα μικρό ποσοστό ασθενών με ΜΔΣ είναι επίσης πιθανό να ανευρεθούν μεταλλάξεις στα γονίδια TERT και TERC. Ειδικά σε παιδιά με διαταραχές στα τελομερή το υΜΔΣ μπορεί να αποτελέσει την πρώτη κλινική εικόνα¹⁵⁻¹⁷.

Ανοσολογικές διαταραχές στα υΜΔΣ

Φαίνεται ότι στα υΜΔΣ υπάρχει μια πόλωση προς Th1 ανοσιακή απάντηση όπως και στην απλαστική αναιμία.

Διαταραχές σε κυτταροκίνες

Έχουν περιγραφεί διάφορες διαταραχές σε κυτταροκίνες σε ασθενείς με ΜΔΣ. Ο Tumor necrosis factor

(TNF- α) είναι σταθερά υψηλός σε δείγματα μυελού των οστών από ασθενείς με ΜΔΣ ανεξάρτητα υποτύπου. Ωστόσο, ο TNF- α φαίνεται να υπερεκφράζεται κυρίως σε ασθενείς με χαμηλού κινδύνου ΜΔΣ. Επίσης τα επίπεδα του TNF- α φαίνεται να είναι αυξημένα και στον ορό των ασθενών με ΜΔΣ. Επιπλέον, ο TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL), ένα μέλος της οικογένειας TNF, υπερεκφράζεται σε ΜΔΣ. Ο TRAIL που φυσιολογικά δεν ανευρίσκεται σε φυσιολογικό μυελό, προάγει την απόπτωση κυρίως σε παθολογικά κύτταρα με καρυοτυπικές ανωμαλίες, μέσω ενεργοποίησης διαφόρων υποδοχέων (agonistic and decoy receptors) σε ασθενείς με ΜΔΣ. Η έκφραση επίσης των υποδοχέων του TRAIL είναι σημαντικά υψηλότερη σε κύτταρα μυελού ασθενών με ΜΔΣ. Επιπλέον, τα κύτταρα του μυελού των ασθενών με ΜΔΣ εμφανίζουν χαμηλότερα επίπεδα FLIP, ενός κυτταροπλασματικού αναστολέα της απόπτωσης, και έτσι μπορεί εν μέρει να εξηγηθεί η επαγόμενη μέσω TRAIL απόπτωση. Η ιντερφερόνη- γ (INF- γ) επίσης υπερεκφράζεται στα μονοπύρνα κύτταρα του μυελού ασθενών με ΜΔΣ. Τόσο ο TNF- α αλλά και η INF- γ ενεργοποιούν την έκφραση του iNOS στα κύτταρα του ΜΔΣ, και οι οποίοι μπορεί δυνητικά να μεσολαβούν στην απορύθμιση της αιμοποίησης στο ΜΔΣ¹⁸⁻²¹. Τέλος σε μια μελέτη φάνηκε ότι η ιντερλευκίνη -4 (IL-4) και τα επίπεδα της CCL3 στον ορό ασθενών με ΜΔΣ υποεκφράζονται και φαίνεται να αποτελούν ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες που σχετίζονται με την επιβίωση.

T-λεμφοκύτταρα

Στην επίκτητη απλαστική αναιμία υπάρχει αρκετή ερευνητική απόδειξη ότι η καταστροφή των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων γίνεται μέσω ενεργοποιημένων (από ένα άγνωστο αντιγόνο) T κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων. Υπάρχει ολογοκλωνική έκπτωση των T κυτταροτοξικών αυτών κυττάρων, με συγκεκριμένη έκφραση της μεταβλητής περιοχής της β -αλυσίδας του T υποδοχέα (TCR $\nu\beta$). Αντίστοιχα ευρήματα υπάρχουν και σε ασθενείς με υΜΔΣ κατά την πρωτοδιάγνωση, ευρήματα τα οποία υποχωρούν μετά την ανταπόκριση στην ανοσοκατασταλτική θεραπεία. Χαρακτηριστικό είναι ότι σε ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία, οι επικρατούντες αυτοί κλώνοι παραμένουν και δεν υποχωρούν ή ακόμα εμφανίζονται και νέοι^{22,23}.

Παρά το ότι τα αντιγόνα που ενεργοποιούν το ανοσοποιητικό σύστημα στα υΜΔΣ δεν είναι γνωστά, ερευνητικές μελέτες έχουν δείξει ότι κάποια μπορεί να αποτελούν τους πιθανούς "υποψήφιους". Οι ασθενείς με ΜΔΣ και τρισωμία 8 συχνά ανταποκρίνονται σε ανοσοκατασταλτική θεραπεία, υποδεικνύοντας ένα

ισχυρό ανοσολογικό μηχανισμό στην παθογένεια τους. Τα κύτταρα ασθενών με τρισωμία 8 εκφράζουν υψηλά επίπεδα του WT1, ενός μεταγραφικού παράγοντα που σχετίζεται με τη παθογένεια του όγκου του Wilms. Τα CD8 + T κύτταρα των ασθενών με τρισωμία 8 είναι σε θέση να αναγνωρίζουν τα πεπτιδία WT1 και να σχετίζονται με υπερέκφραση INF γ in vitro, γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτό το αντιγόνο μπορεί να συνεισφέρει στην ενεργοποίησή του ανοσοποιητικού συστήματος²⁴.

Επίσης, είναι γνωστό ότι αρκετά αυτοάνοσα νοσήματα σχετίζονται με συγκεκριμένα HLAs, και μεταξύ αυτών και η απλαστική αναιμία έχει συνδεθεί με το HLA-DR15. Ασθενείς με ΜΔΣ φαίνεται να εκφράζουν σε μεγαλύτερο ποσοστό το HLA-DR15 σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες, και ακόμα πιο μεγάλο ποσοστό φαίνεται να υπάρχει σε ασθενείς που έχουν και κλώνο PNH.

Όλες οι πιο πάνω παρατηρήσεις φαίνεται να ενισχύουν την άποψη ότι το ανοσοποιητικό σύστημα φαίνεται να κατέχει ένα σημαντικό ρόλο στη παθογένεια των υΜΔΣ²⁵.

Διαταραχές στο μικροπεριβάλλον σε ασθενείς με υΜΔΣ

Πρόσφατες παρατηρήσεις έχουν αλλάξει τον τρόπο που αντιλαμβανόμαστε τη λευχαιμογένεση και είναι πιθανόν ότι το μικροπεριβάλλον του μυελού μπορεί να συμβάλει στην κλωνική εξέλιξη. Σε πειραματικά μοντέλα η έλλειψη του Dicer1, μιας RNase III ενδονουκλεάσης που είναι απαραίτητη για τη δημιουργία των microRNA και την επεξεργασία του RNA, οδηγεί σε δυσπλαστικές αλλοιώσεις και κυτταροπενίες που αφορούν τη μυελική και τη μεγακαρυοκυτταρική σειρά. Επίσης, φάνηκε ότι knock-out Dicer1 ποντίκια παρουσιάζουν σπληνική διήθηση με βλάστες, καθώς και κυκλοφορία μονοκυττάρων που μοιάζουν με κύτταρα της ανθρώπινης οξείας μονοκυτταρικής, ή μυελομονοκυτταρικής λευχαιμίας. Ωστόσο, σε αυτό το μοντέλο ποντικού, ο μυελός δεν είναι υποκυτταρικός²⁶.

Ανάλυση έκφρασης του γονιδίου SBDS, έδειξε επίσης μειωμένη έκφραση του γονιδίου αυτού σε ασθενείς με υΜΔΣ. Μεταλλάξεις στο γονίδιο SBDS αποτελούν αιτιολογικό παράγοντα στο σύνδρομο Shwachman - Diamond, ένα κληρονομικό σύνδρομο ανεπάρκειας μυελού των οστών που χαρακτηρίζεται από απλαστική αναιμία, ανεπάρκεια στην εξωκρινή μοίρα του παγκρέατος, και αυξημένη πιθανότητα εξέλιξης σε ΜΔΣ με καρυοτυπικές ανωμαλίες με συμμετοχή του χρωμοσώματος 7²⁷.

Γενομικές διαταραχές

Πολύ πρόσφατα έχει φανεί ότι οι ασθενείς με ΜΔΣ παρουσιάζουν σωματικές μεταλλάξεις σε διάφορα γονίδια. Κάποιες από τις μεταλλάξεις αυτές προδιαθέτουν σε εξέλιξη του ΜΔΣ σε οξεία λευχαιμία, και επηρεάζουν τη συνολική επιβίωση των ασθενών αυτών. Μεταλλάξεις στο *TET1*, *ASXL1*, και στο *DNMT3A* γονίδιο υπάρχουν και σε υγιή άτομα και η συχνότητα τους αυξάνεται με την ηλικία. Μάλιστα οι μεταλλάξεις αυτές προδιαθέτουν στην εμφάνιση κάποιου αιματολογικού νοσήματος στη μετέπειτα ζωή των ατόμων αυτών. Με τη χρήση next generation sequencing ανακαλύφθηκαν διάφορα γονίδια σε ασθενείς με ΜΔΣ. Το 75% των ασθενών με ΜΔΣ είχαν τουλάχιστον μια μετάλλαξη σε ένα γονίδιο, με πιο συχνές τις μεταλλάξεις στα SF3B1 (15%), ASXL1 (14%), STAG2 (11%), TET2 (10%), RUNX1 (10%). Εντούτοις, οι ασθενείς με υΜΔΣ έχουν λιγότερο συχνά και λιγότερες μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά σε σχέση με τους ασθενείς με υπερπλαστικό μυελό και ΜΔΣ²⁸⁻³⁰.

Αναπόκριση στην ανοσοκατασταλτική θεραπεία

Η αναπόκριση ορισμένων ασθενών με υΜΔΣ στην ανοσοκατασταλτική θεραπεία αποτελεί την πιο χαρακτηριστική απόδειξη ότι το ανοσοποιητικό σύστημα κατέχει πρωτεύοντα ρόλο στην παθογένεια των υΜΔΣ. Οι ασθενείς με υΜΔΣ εξελίσσονται λιγότερο συχνά σε οξεία λευχαιμία, ενώ συνήθως η θνησιμότητα των ασθενών αυτών συνδέεται με επιπλοκές λόγω της ανεπάρκειας του μυελού (π.χ. λοιμώξεις λόγω ουδετεροπενίας, αιμορραγικές εκδηλώσεις λόγω θρομβοπενίας). Διάφορες κλινικές μελέτες χρησιμοποιούν διάφορα ανοσοκατασταλτικά σχήματα στην προσπάθεια αποκατάστασης των κυτταροπενιών όπως και στην απλαστική αναιμία: κυκλοσπορίνη, κορτιζόνη μαζί με κυκλοσπορίνη, αντι-θυμοκυτταρικός ορός ή/και κυκλοσπορίνη σε νεότερα άτομα, alemtuzumab. Καλύτερη αναπόκριση φαίνεται να έχει η χρήση της κυκλοσπορίνης στους ασθενείς αυτούς με ποσοστά αναπόκρισης που φτάνουν μέχρι και το 80% σε κάποιες μελέτες. Συνδυάζοντας τα αποτελέσματα από διάφορες μελέτες, φαίνεται ότι το ένα τρίτο των ασθενών αυτών ανταποκρίνεται στη θεραπεία με κυκλοσπορίνη ή/και κορτιζόνη.

Ο συνδυασμός του αντι-θυμοκυτταρικού ορού μαζί με κυκλοσπορίνη είναι γνωστό ότι αποτελεί τον πιο αποτελεσματικό συνδυασμό σε ασθενείς με απλαστική αναιμία σε σχέση με οποιαδήποτε άλλη θεραπευτική επιλογή. Αρκετές είναι και οι μελέτες που έχουν παρατηρήσει το συνδυασμό αυτό και σε ασθενείς με

υΜΔΣ. Το ποσοστό ανταπόκρισης στις μελέτες αυτές κυμάνθηκε από 16-45%, αλλά οι ασθενείς με υΜΔΣ δεν έδειξαν στατιστικά σημαντική καλύτερη ανταπόκριση σε αυτή την ανοσοκατασταλτική θεραπεία σε σχέση με τους ασθενείς με νορμο- ή υπερ-κυτταρικό μυελό. Σε μια μεγαλύτερη κλινική μελέτη στο NIH, οι ασθενείς έλαβαν είτε αντιθυμοκυτταρικό ορό ως μονοθεραπεία (n=74), κυκλοσπορίνη μόνο (n=13), ή συνδυασμό των δύο (n=42). Η συνδυασμένη θεραπεία φάνηκε να επιτυγχάνει μεγαλύτερα ποσοστά αναπόκρισης σε σχέση με τον ένα παράγοντα μόνο³¹⁻³³. Η χρήση του αντιθυμοκυτταρικού ορού λόγω της έντονης ανοσοκαταστολής περιορίζεται συνήθως σε νεότερα άτομα με ΜΔΣ.

Πιο πρόσφατα, το μονοκλωνικό αντίσωμα αντι-CD52 (alemtuzumab) χρησιμοποιήθηκε ως μονοθεραπεία σε μια πιλοτική μελέτη με 21 επιλεγμένους ασθενείς με ΜΔΣ. Οι ασθενείς επιλέχθηκαν με βάση την πιθανότητα να ανταποκριθούν σε θεραπεία με αντι-θυμοκυτταρικό ορό (νεαρή ηλικία, χαμηλό IPSS σκορ, παρουσία του HLA DR15). Οι συγγραφείς παρατήρησαν ένα σημαντικό ποσοστό αναπόκρισης μεταξύ των ασθενών με ενδιάμεσο - 1 ΜΔΣ (15 από τους 16 ασθενείς), αλλά και μεταξύ των ασθενών με ενδιάμεσο - 2 ΜΔΣ (2 από 5 ασθενείς). Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζει η παρατήρηση ότι πέντε από τους επτά ασθενείς με μη φυσιολογικό καρυότυπο είχε πλήρη κυτταρογενετική ύφεση, συμπεριλαμβανομένου ενός ασθενή με μονοσωμία 7³⁴.

Το Eltrombopag αποτελεί ένα μικρό μόριο, αγωνιστή του υποδοχέα της θρομβοποιητίνης, το οποίο συνδέεται σε διαφορετική θέση από τη θρομβοποιητίνη. Έτσι, έχει αποδειχθεί ότι δεν ανταγωνίζεται με την ενδογενή θρομβοποιητίνη για σύνδεση στον υποδοχέα της. Το φάρμακο αυτό σχεδιάστηκε αρχικά για την ανθεκτική ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα αλλά η χρήση του Eltrombopag στην απλαστική αναιμία έδειξε αναποκρίσεις και στις τρεις σειρές³⁵. Έτσι το φάρμακο αυτό πιθανά να αποτελεί ένα σημαντικό υποψήφιο και για το υΜΔΣ. Κάποιες δημοσιεύσεις από μεμονωμένες περιπτώσεις αναφέρουν αναποκρίσεις και σε ασθενείς με υΜΔΣ³⁶.

Συμπέρασμα

Τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερα στοιχεία δείχνουν ότι το ανοσοποιητικό σύστημα παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του ΜΔΣ. Η γνώση αυτή έχει κλινικές εφαρμογές, αφού ένα ποσοστό ασθενών θα μπορεί να επωφεληθεί με τη χρήση της ανοσοκατασταλτικής θεραπείας με σημαντική υποχώρηση των πενιών και πιθανά ακόμα και να

επάγουν κυτταρογενετική ανταπόκριση. Επίσης, νεότερες θεραπευτικές επιλογές που είναι λιγότερο τοξικές μπορεί να είναι ευεργετικές σε ένα ποσοστό ασθενών. Ο ανοσοποιητικός μηχανισμός που πιθανά εμπλέκεται στη παθογένεια των υΜΔΣ, δεν περιορίζεται μόνο σε αυτό τον υπότυπο αφού σε όλους τους ασθενείς με ΜΔΣ φαίνεται να υπάρχει μια λεπτή ισορροπία μεταξύ του ανοσοποιητικού συστήματος, του μικροπεριβάλλοντος του μυελού, της πολλαπλασιαστικής ικανότητας του παθολογικού κλώνου και της καταστολής της φυσιολογικής αιμοποίησης. Αν και το υΜΔΣ δεν ταξινομείται ως ανεξάρτητη κατηγορία, σύμφωνα με την ταξινόμηση του ΠΟΥ, οι ασθενείς με υΜΔΣ τείνουν να έχουν λιγότερο δραματική κλινική πορεία, καλύτερη πρόγνωση και μικρότερη πιθανότητα να εξελιχθούν σε λευχαιμία.

ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Orazi A, Czader M. Myelodysplastic Syndromes. *Am J Clin Pathol* 2009; 132:290-305.
- WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2008.
- Marisavljevic M, Cemerikic V, Rolovic Z, Bosovic D, Colovic M. Hypocellular myelodysplastic syndromes: clinical and biological significance. *Med Oncol*. 2005;22:169–175.
- Greenberg PL, Stone RM, Bejar R, Bennett JM, Bloomfield CD, et al. Myelodysplastic Syndromes. *J Natl Compr Canc Netw*. 2015;13:261-272.
- Della Porta MG. Validation of WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS) for myelodysplastic syndromes and comparison with the revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R). A study of the International Working Group for Prognosis in Myelodysplasia (IWG-PM). *Leukemia*. 2015;29:1502-1513.
- Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G et al. Cytopenia levels for aiding establishment of the diagnosis of myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2016 Aug 17. pii: blood-2016-07-728766. [Epub ahead of print].
- Calado R. Immunological aspects of hypoplastic myelodysplastic syndrome. *Semin Oncol*. 2011;38:667–672.
- Bennett JM, Orazi A. Diagnostic criteria to distinguish hypocellular acute myeloid leukemia from hypocellular myelodysplastic syndromes and aplastic anemia: recommendations for a standardized approach. *Haematologica*. 2009;94:264–268.
- Koh Y, Lee HR, Song EY, Kim HK, Kim I, et al. Hypoplastic myelodysplastic syndrome (h-MDS) is a distinctive clinical entity with poorer prognosis and frequent karyotypic and FISH abnormalities compared to aplastic anemia (AA). *Leuk Res*. 2010;34:1344-1350.
- Konoplev S, Medeiros LJ, Lennon PA, Prajapati S, Kanungo A et al. Therapy may unmask hypoplastic myelodysplastic syndrome that mimics aplastic anemia. *Cancer*. 2007;110:1520-6.
- Sloand EM. Hypocellular Myelodysplasia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;23:347-60.
- Young NS, Maciejewski JP. Genetic and environmental effects in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: this little PIG-A goes “Why? Why? Why?”. *J Clin Invest*. 2000;106:637–641.
- Wang SA, Pozdnyakova O, Jorgensen JL, Medeiros LJ, Stachurski D, et al. Detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients with myelodysplastic syndromes and related bone marrow diseases, with emphasis on diagnostic pitfalls and caveats. *Haematologica*. 2009;94:29–37.
- Wang H, Chuhjo T, Yasue S, Omine M, Nakao S. Clinical significance of a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells in bone marrow failure syndrome. *Blood*. 2002;100:3897–3902.
- Calado RT, Young NS. Telomere maintenance and human bone marrow failure. *Blood*. 2008;111:4446–4455.
- Calado RT, Regal JA, Kleiner DE, Schrupp DS, Peterson NR et al. A spectrum of severe familial liver disorders associate with telomerase mutations. *PLoS one*. 2009;4:e7926.
- Yamaguchi H, Baerlocher GM, Lansdorp PM, Chanock SJ, Nunez O, et al. Mutations of the human telomerase RNA gene (*TERC*) in aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2003;102:916–918.
- Kitagawa M, Saito I, Kuwata T, Yoshida S, Yamaguchi S et al. Overexpression of tumor necrosis factor (TNF)- α and interferon (INF)-gamma by bone marrow cells from patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 1997;11:2049–2054.
- Verhoef GE, De Schouwer P, Ceuppens JL, Van Damme J, Goossens W et al. Measurement of serum cytokine levels in patients with myelodysplastic syndrome. *Leukemia*. 1992;6:1268–1272.
- Kornblau SM, McCue D, Singh N, Chen W, Estrov Z et al. Recurrent expression signatures of cytokines and chemokines are present and are independently prognostic in acute myelogenous leukemia and myelodysplasia. *Blood*. 2010 *Blood*. 2010;116:4251.
- Kitagawa M, Takahashi M, Yamaguchi S, Inoue M, Ogawa S et al. Expression of inducible nitric oxide synthase (NOS) in bone marrow cells of myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 1999;13:699–703.
- Risitano AM, Maciejewski JP, Green S, Plasilova M, Zeng W et al. In-vivo dominant immune responses in aplastic anaemia: molecular tracking of 16 putatively pathogenetic T-cell clones by TCR beta-CDR3 sequencing. *Lancet*. 2004;364:355–364.
- Wlodarski MW, Gondek LP, Nearman ZP, Plasilova M, Kalaycio M et al. Molecular strategies for detection and quantitation of clonal cytotoxic T-cell responses in aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2006;108:2632–2641.

24. Nishimura M, Yamada T, Andoh T, Tao T, Emoto M, et al. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) dependent hematopoiesis with monosomy 7 in a patient with severe aplastic anemia after ATG/CsA/G-CSF combined therapy. *Int J Hematol*. 1998;68:203–211.
25. Sauntharajah Y, Nakamura R, Nam JM, Robyn J, Loberiza F et al. HLA-DR15 (DR2) is overrepresented in myelodysplastic syndrome and aplastic anemia and predicts a response to immunosuppression in myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2002;100:1570–1574.
26. Raaijmakers MH, Mukherjee S, Guo S, Zhang S, Kobayashi T, et al. Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukaemia. *Nature*. 2010;464:852–857.
27. Boocock GR, Morrison JA, Popovic M, Richards N, Ellis L et al. Mutations in SBDS are associated with Shwachman-Diamond syndrome. *Nat Genet*. 2003;33:97–101.
28. Nazha A, Seastone D, Radivoyevitch T, Przychodzen B, Carraway HE et al. Genomic patterns associated with hypoplastic compared to hyperplastic myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2015; 100:e434.
29. Jung SH, Kim YJ, Yim SH, Kim HJ, Kwon YR, et al. Somatic mutations predict outcomes of hypomethylating therapy in patients with myelodysplastic syndrome. *Oncotarget*. 2016 Jul 11. doi: 10.18632/oncotarget.10526.
30. Inoue D, Bradley RK, Abdel-Wahab O. Spliceosomal gene mutations in myelodysplasia: molecular links to clonal abnormalities of hematopoiesis. *Genes Dev*. 2016;30:989-1001. doi: 10.1101/gad.278424.116.
31. Yamada T, Tsurumi H, Kasahara S, Hara T, Sawada M et al. Immunosuppressive therapy for myelodysplastic syndrome: efficacy of methylprednisolone pulse therapy with or without cyclosporin A. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2003;129:485–491.
32. Killick SB, Mufti G, Cavenagh JD, Mijovic A, Peacock JL et al. A pilot study of antithymocyte globulin (ATG) in the treatment of patients with 'low-risk' myelodysplasia. *Br J Haem*. 2003;120:670-284.
33. Marsh J, Schrezenmeier H, Marin P, Ilhan O, Ljungman P, et al. Prospective randomized multicenter study comparing cyclosporin alone versus the combination of antithymocyte globulin and cyclosporin for treatment of patients with nonsevere aplastic anemia: A report from the European Blood and Marrow Transplant (EBMT) Severe Aplastic Anemia Working Party. *Blood*. 1999;93:2191–2195.
34. Sloan EM, Olnes MJ, Shenoy A, Weinstein B, Boss C, et al. Alemtuzumab Treatment of Intermediate-1 (INT-1) Myelodysplasia Patients Is Associated with Sustained Improvement in Blood Counts and Cytogenetic Remissions. *J Clin Oncol*. 2010;28:5166-5173.
35. McCormack PL. Eltrombopag: a review of its use in patients with severe aplastic anaemia. *Drugs*. 2015;75:525-531.
36. Gauchan D, Shaaban H, Gedeon D, Maroules M. Use of eltrombopag for the treatment of thrombocytopenia in hypoplastic myelodysplastic syndrome. *Ann Hematol* 2014;93:1777-1778.

Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα με ίνωση

ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΓΑΛΑΝΟΠΟΥΛΟΣ, ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΤΣΟΚΑΝΑΣ

Αιματολογική Κλινική, Γ.Ν. «Γ. Γεννηματάς», Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ινική αποτελεί φυσιολογικό δομικό στοιχείο του στρώματος στο μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών, και συνεισφέρει στη δημιουργία συνδετικού ιστού για την υποστήριξη των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων¹. Οι πιο χαρακτηριστικοί τύποι ινών του μυελού είναι οι ίνες ρετικουλίνης και οι ίνες κολλαγόνου I/II. Έλεγχος του μυελού των οστών για ύπαρξη ίνωσης γίνεται με την χρώση Gomori. Οι ίνες ρετικουλίνης έχουν μικρότερη διάμετρο και μεγαλύτερη ποσότητα διάμεσης ουσίας μεταξύ των ινιδίων σε σύγκριση με τις ίνες κολλαγόνου².

Ένας μεγάλος αριθμός καλοήθων και κακοήθων νοσημάτων παρουσιάζει παθολογική αύξηση ινικής μυελού. Μεταξύ των αιματολογικών κακοηθειών περιλαμβάνονται μυελοϋπερπλαστικά νεοπλάσματα (πρωτοπαθής μυελοϊνωση, μυελοϊνωση δευτεροπαθής μετά θρομβοκυτταραιμία και πολυκυτταραιμία, χρόνια μυελογενής λευχαιμία (bcf/abl1+), μυελοδυσπλαστικά/μυελοϋπερπλαστικά νεοπλάσματα (χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία, ανθεκτική αναιμία με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες και θρομβοκυτταρωση) και οξεία λευχαιμία (οξεία μεγακαρυοβλαστική λευχαιμία και οξεία πανμύελωση με μυελοϊνωση). Επίσης μυελοϊνωση (MI) αναφέρεται σε ασθενείς με μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (ΜΔΣ-Ι).

Ιστορική αναδρομή

Η MI σε ΜΔΣ δεν είχε αξιολογηθεί επαρκώς στο παρελθόν με συνέπεια να μην αποτελεί ιδιαίτερη οντότητα στην ταξινόμηση WHO 2008³. Κατά τη χρονική περίοδο της FAB ταξινόμησης, αρκετές μελέτες είχαν

ασχοληθεί με την ύπαρξη και την κλινική σημασία της MI σε ΜΔΣ, πολλές φορές όμως, με αντικρουόμενα αποτελέσματα, λόγω της ετερογένειας των ασθενών των διαφόρων ομάδων καθώς και του ετερογενούς συστήματος βαθμολόγησης της ίνωσης. Βιβλιογραφικές αναφορές μέχρι σήμερα έχουν δείξει ότι μέτρια προς βαριά ίνωση μυελού παρατηρείται σε 10-20% πρωτοπαθών ΜΔΣ και σχετίζεται με πολυγραμμική δυσπλασία, βαριές κυτταροπενίες και εξάρτηση από μεταγγίσεις συμπτωκνωμένων ερυθρών και αιμοπεταλίων⁴⁻⁶.

Παθοφυσιολογία

Η παθοφυσιολογία της MI έχει αρχίσει να μελετάται τελευταία. Στα περισσότερα νοσήματα η αυξημένη ίνωση σχετίζεται με ανωμαλίες του αριθμού και/ή την λειτουργία των μεγακαρυοκυττάρων και των αιμοπεταλίων⁷. Οι κυτταροκίνες των μεγακαρυοκυττάρων και αιμοπεταλίων είναι αναγκαίες αλλά όχι τελείως απαραίτητες για τη δημιουργία ίνωσης. Ο αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού β (transforming growth factor-β, TGF-β), ένας αγγειογενετικός παράγοντας (κυτταροκίνη), ο οποίος διεγείρει τη σύνθεση κολλαγόνου από ινοβλάστες, παίζει σημαντικό ρόλο στη παθολογική αύξηση και εναπόθεση ινών στο στρώμα του μυελού των οστών. Εκτός αυτού όμως συμμετέχουν και άλλοι τύποι κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων⁷.

Ο αυξητικός παράγοντας διαφοροποίησης 15 (Growth differentiation factor15, GDF15) είναι μία κυτταροκίνη, με πολλούς τρόπους δράσης (pleiotropic), η οποία ανήκει στον υπότυπο της μορφογενετικής πρωτεΐνης (Bone morphogenetic protein, BMP),

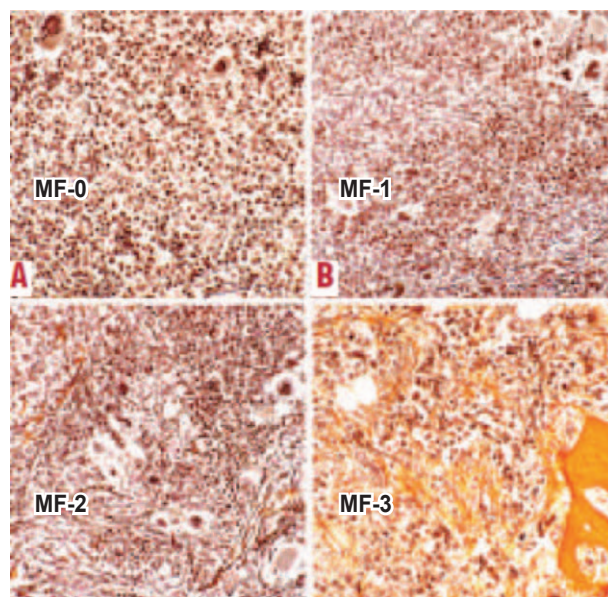
της οικογένειας TGF- β^{8-9} . Διάφοροι τύποι κυττάρων παράγουν GDF15, σε απάντηση κυτταρικού stress, όπως σε φλεγμονή και ισχαιμία, αν και η σταθερή πηγή παραγωγής του είναι ο πλακούντας. Ο παράγοντας αυτός αυξάνεται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης αλλά και σε παθολογικές καταστάσεις όπως οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου, γλοίωμα εγκεφάλου καθώς και σε διάφορες κακοήθειες όπως προστάτου, εντέρου και παγκρέατος¹⁰. Σε αιματολογικά νοσήματα, υψηλά επίπεδα του GDF15 ευρίσκονται σε ασθενείς με σύνδρομα δυσερυθροποίησης, όπως β-θαλασσαιμία, συγγενή δυσερυθροποιητική αναιμία τύπου I και ανθεκτική αναιμία με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες. Στα ανωτέρω νοσήματα αποτελούν κοινά ευρήματα η υπερφόρτωση με σίδηρο και η μη αποδοτική ερυθροποίηση. Πηγή έκκρισης του παράγοντα, στα ανωτέρω νοσήματα, θεωρούνται τα κύτταρα της ερυθράς σειράς¹¹. Επίσης υψηλά επίπεδα του GDF15 έχουν βρεθεί πρόσφατα στον ορό ασθενών με πολλαπλούν μυέλωμα και μυελοϋπερπλαστικά νεοπλάσματα (MYN), όπως αληθή πολυκυτταραιμία, ιδιοπαθή θρομβοκυτταραιμία και πρωτοπαθή μυελοϊνώση (ΠΜΥ). Πηγή του παράγοντα στα MYN είναι τα μεγακαρυοκύτταρα του μυελού των οστών. Ο GDF15 αυξάνει τον πολλαπλασιασμό και την οστεογενετική διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων με αποτέλεσμα την συμμετοχή του στην παθογένεια των MYN¹². Σε ΜΔΣ-Ι, η υπερπαραγωγή TGF- β 1 από τους βλάστες του μυελού των οστών πιθανόν να σχετίζεται με τη MI και τον αυξημένο αριθμό αιμοπεταλίων¹³.

Βαθμολόγηση της MI

Η χρήση ακριβούς ορολογίας, όσον αφορά τον τύπο και το βαθμό ίνωσης, είναι πολύ σημαντική. Παλαιότερα, η εκτίμηση του ποσοστού ίνωσης του μυελού των οστών ήταν υποκειμενική. Οι παθολογοανατόμοι βαθμολογούσαν την ίνωση με υποκειμενικά κριτήρια και διαφορετικά συστήματα διαβάθμισης^{13,14}. Το 2005 μία ομάδα ειδικών (European Myelofibrosis Network, EUMNET) δημιούργησαν ένα σύστημα ταξινόμησης με σκοπό την εκτίμηση της MI και την αποφυγή αλληλοκαλύψεων μεταξύ των παθολογοανατόμων, με επίτευξη υψηλού βαθμού αναπαραγωγιμότητας στη κλινική πρακτική¹⁵. Με την βαθμολόγηση της MI, οι ασθενείς κατατάσσονται σε 4 κατηγορίες (περιλαμβάνεται και ο φυσιολογικός μυελός) ανάλογα με το ποσοστό ινών ρετικουλίνης και κολλαγόνου (Πίνακας 1, Σχήμα 1). Λόγω της υψηλής αναπαραγωγιμότητας των κριτηρίων EUMNET στα διάφορα αιματολογικά νοσήματα, επικυρωμένων από ανεξάρτητους ερευνητές, αυτά αποτελούν αξιόπιστο εργαλείο για την

Πίνακας 1. Βαθμολόγηση μυελοϊνώσεως

Βαθμολόγηση	Περιγραφή
MF-0	Διάσπαρτες ίνες ρετικουλίνης μη διασταυρούμενες (φυσιολογικός μυελός)
MF-1	Χαλαρό δίκτυο ρετικουλίνης με πολλές διασταυρώσεις, κυρίως περιαγγειακά
MF-2	Διάχυτη, πυκνή αύξηση ινών ρετικουλίνης, με πολλές διασταυρώσεις, με εστιακές δεσμίδες κολλαγόνου και/ή εστιακή οστεοσκλήρυνση
MF-3	Διάχυτη και πυκνή αύξηση ινών ρετικουλίνης, με εκτεταμένη διασταύρωση από πυκνές δεσμίδες κολλαγόνου, συχνά σχετιζόμενη με σημαντική οστεοσκλήρυνση



Σχήμα 1. Απεικόνιση των τεσσάρων βαθμών μυελοϊνώσεως.

εκτίμηση του βαθμού της παθολογικής αύξησης της MI σε διάφορες κλινικές οντότητες (Πίνακας 2).

Πρόγνωση

Η εκτίμηση της MI, σε μυελικές κακοήθειες, σχετίζεται όχι μόνο με την διάγνωση αλλά και την πρόγνωση. Σε ΠΜΥ η παρουσία ινών κολλαγόνου τύπου I, στον μυελό των οστών σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση¹⁶. Σε ιδιοπαθή θρομβοκυτταραιμία σχετίζεται με υψηλή συχνότητα θρομβωτικών, αιμορραγικών επεισοδίων και εξέλιξης προς MI¹⁷. Επίσης η MI αποτελεί προγνωστικό παράγοντα θεραπευτικής αποτελεσματικότητας

Πίνακας 2. Διαφορική διάγνωση ΜΔΣ-I από άλλα ΜΥΝ

ΠΜΥ (ινωτική φάση)	ΜΔΣ-I	Μυελοϊνώση μετά πολυκυτταραιμία (PV)
JAK2 V617F μεταλλάξεις σε 50%	JAK2V617F μεταλλάξεις σπάνιες	JAK2V617F μεταλλάξεις σχεδόν 100%
Υπερπλασία μεγακαρυοκυττάρων, καθ' ομάδες	Υπερπλασία μεγακαρυοκυττάρων με έντονη δυσπλασία (όχι καθ' ομάδες)	Αύξηση μεγακαρυοκυττάρων με ποικίλο μέγεθος
Εκσεσημασμένη σπληνομεγαλία	Σπληνομεγαλία (σπανίως)	Εκσεσημασμένη σπληνομεγαλία
Δεν πληροί κριτήρια ΜΔΣ ή PV	Πολυγραμμική δυσπλασία με αύξηση αριθμού βλαστών	Ιστορικό PV

και εγκατάστασης του μυελικού μοσχεύματος μετά μεταμόσχευση στην χρόνια μυελογενή λευχαιμία¹⁸.

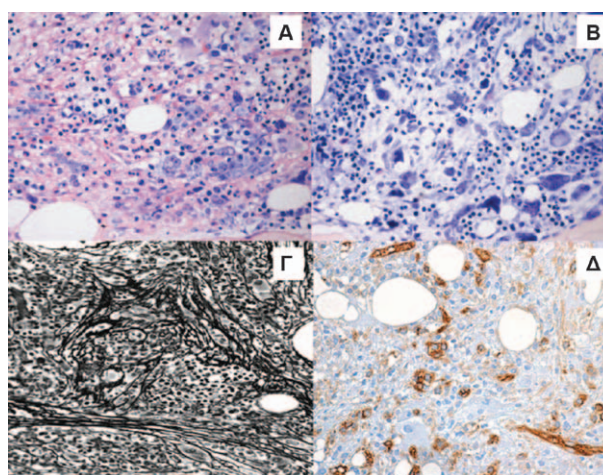
Έχει βρεθεί ότι σε ΜΔΣ-I, η MI βαθμού ≥ 2 , σχετίζεται με την παρουσία μεταλλάξεων στα γονίδια της κοχεσίνης (cohesin) (31,5% vs 5,4%, $p=0,006$). Αντίθετα, μεταλλάξεις των CALR, JAK2, PDGFRA, PDGFRB και TP53 είναι πολύ σπάνιες. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, η MI βαθμού ≥ 2 αποτελούσε σημαντικό παράγοντα πρόγνωσης της ολικής επιβίωσης, ανεξαρτήτως ηλικίας, κατάστασης ικανότητας και IPSS-R score¹⁹.

Ο τύπος της MI (ίνες ρετικουλίνης ή κολλαγόνου) παίζει σημαντικό ρόλο στη βαρύτητα της κλινικής εικόνας της υποκείμενης αιματολογικής διαταραχής. Η αύξηση των ινών ρετικουλίνης δεν φαίνεται να σχετίζεται με τη βαρύτητα της αιματολογικής νόσου, ενώ αντίθετα η παρουσία ινών κολλαγόνου σχετίζεται με κυτταροπενίες και κακή πρόγνωση. Επίσης, θεραπευτική παρέμβαση είναι δυνατόν να υποστρέψει την ίνωση την οφειλόμενη σε ίνες ρετικουλίνης, αντίθετα με την ίνωση από ίνες κολλαγόνου²⁰.

Τυπικά ιστολογικά ευρήματα σε ΜΔΣ-I αποτελούν: α) η αυξημένη κυτταρική πυκνότητα με υπερπλασία ερυθράς σειράς, β) η παρουσία ευμεγέθων δυσπλαστικών μεγακαρυοκυττάρων (με μικρή λόβωση), γ) η θετική χρώση για ίνωση, δ) η παρουσία ομάδων CD34 κυττάρων (Σχήμα 2).

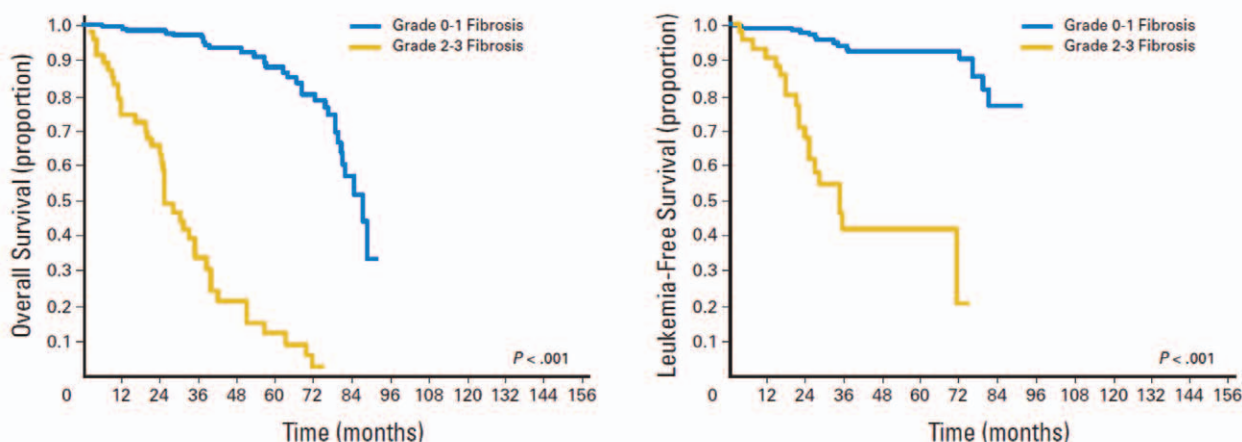
Σε αναδρομική μελέτη, επί 301 ασθενών με πρωτοπαθές ΜΔΣ, υπήρχε MI (μέτρια προς βαριά) σε ποσοστό 17% των ασθενών και σχετιζόταν με πολυγραμμική δυσπλασία, εξάρτηση από μεταγίσεις και κακής πρόγνωσης καρυότυπο. Σε πολυπαραγοντική ανάλυση, η MI ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας στην ολική επιβίωση (OS) και επιβίωση ελεύθερη νόσου (LFS) ($p=0,001$ και $p<0,001$ αντίστοιχα) (Σχήμα 3)²¹.

Σε πρόσφατη αναδρομική μελέτη μεταξύ 630 ασθενών με πρωτοπαθές ΜΔΣ, MI βαθμού ≥ 2 παρατηρήθηκε σε 79 ασθενείς (13%)²². Δεν υπήρχε διαφορά στην ηλικία, υπήρχε όμως μεγαλύτερη συχνότητα σε γυναίκες. Οργανομεγαλία και εξάρτηση



Σχήμα 2. Τυπικά ιστολογικά ευρήματα σε ΜΔΣ-I. **A.** Αυξημένη κυτταρική πυκνότητα με υπερπλασία ερυθράς σειράς. **B.** Δυσπλασία μεγ/ρων με ελαττωμένη λόβωση. **Γ.** Ίνωση (Gomori χρώση +). **Δ.** Αύξηση ομάδων CD34+ κυττάρων.

από μεταγίσεις ήταν συχνότερα στην ομάδα MI, σε σύγκριση με την ομάδα ασθενών χωρίς MI ($p=0,079$, $p<0,001$, αντίστοιχα). Από τον αιματολογικό έλεγχο, τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης και ο αριθμός των ουδετεροφίλων ήταν συγκρίσιμα με εξαίρεση την ηυξημένη συχνότητα της θρομβοπενίας σε ασθενείς με MI ($p<0,001$). Από τα ευρήματα του μυελού των οστών υπήρχε αύξηση μεγακαρυοκυττάρων ($p<0,001$), ενώ η δυσπλασία των μεγακαρυοκυττάρων δεν διέφερε μεταξύ των δύο ομάδων. Δεν υπήρχε διαφορά στα κυτταρογενετικά ευρήματα. Από τον μοριακό έλεγχο η μετάλλαξη JAK2 V617F ανιχνεύθηκε σε 6/28 (21%) ασθενών με MI vs 1/41 (2%) σε ασθενείς χωρίς MI ($p=0,014$), ενώ ο έλεγχος μεταλλάξεων για RAS, FLT3, KIT, NPM1, CEBPA και MPL δεν ανέδειξε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων. Σε ποσοστό 3-4% των ασθενών, MI εμφανίσθηκε κατά τη διάρκεια του νοσήματος, η οποία σχετιζόταν με πρόοδο της νόσου. Η MI αποτελούσε αρνητικό προγνωστικό παράγοντα κατά τη θεραπευτική προσέγγιση είτε με υπομεθυλιω-



Σχήμα 3. OS και LFS σε ασθενείς με ΜΔΣ με ή χωρίς ίνωση.

τικούς παράγοντες ή αλλογενή μεταμόσχευση, χωρίς βελτίωση της MI μετά από οποιαδήποτε θεραπεία. Η MI αποτελούσε ανεξάρτητο αρνητικό προγνωστικό παράγοντα ανεξαρτήτως κυτταρογενετικών ευρημάτων (δεν υπήρχε διαφορά των κυτταρογενετικών ευρημάτων μεταξύ ασθενών με ή χωρίς MI)²².

Η ανοσοϊστοχημική υπερέκφραση TP53 σχετίζεται με την ύπαρξη TP53 μεταλλάξεων, η οποία παρατηρείται σε ποσοστό μέχρι 7% σε πρωτοπαθή ΜΔΣ και σχετίζεται με κακή κλινική εξέλιξη²³. Σε πρόσφατη μελέτη διερευνήθηκε η κλινική σημασία της ύπαρξης μεταλλάξεων TP53 σε ασθενείς με ΜΔΣ-I²⁴. Η ανάλυση των μεταλλάξεων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση νέας γενιάς αλληλούχισης (next generation sequencing, NGS) ή μεθόδους αλληλούχισης γονιδιώματος κατά Sanger. Στη μελέτη παρατηρήθηκαν μεταλλάξεις του TP53 σε ποσοστό 47,1% των περιπτώσεων ΜΔΣ-I με αντίστοιχη ανοσοϊστοχημική έκφραση του TP53 σε τομές οστεομυελικής βιοψίας. Υψηλή έκφραση του TP53 (3+ σε $\geq 10\%$ των κυττάρων) σχετιζόταν με ασθενείς οι οποίοι είχαν: μεγαλύτερο αριθμό βλαστών ($p=0,0149$), ανωμαλίες του χρωμοσώματος 5 ($p=0,0009$) ή του χρωμοσώματος 7 ($p=0,0141$), σύνθετο καρυότυπο ($p=0,0002$), ανήκαν σε ομάδες υψηλού και πολύ υψηλού κινδύνου κατά IPSS-R και είχαν μικρότερη ολική επιβίωση ($p<0,001$). Συμπερασματικά, η υψηλή έκφραση TP53 σε ασθενείς με ΜΔΣ-I, αποτελεί αρνητικό προγνωστικό παράγοντα, κακής κλινικής εξέλιξης²⁴.

Δευτεροπαθή ΜΔΣ σχετιζόμενα με προηγηθείσα θεραπεία (therapy-related MDS, t-MDS) προκύπτουν μετά χορήγηση κυτταροτοξικής χημειοθεραπείας για κακοήγη νοσήματα ή σπανιότερα για μη κακοήγη νοσήματα. Σε πρόσφατη μελέτη 266 ασθενών με t-MDS,

MI βαθμού ≥ 2 παρατηρήθηκε σε 47 ασθενείς (17%). Οι ασθενείς με την MI παρουσίαζαν βαρύτερη θρομβοπενία, μεγαλύτερο ποσοστό βλαστών περιφερικού αίματος και μεγαλύτερο αριθμό μεγακαρυοκυττάρων μυελού των οστών σε σύγκριση με την ομάδα χωρίς MI. Σε αντίθεση με τους ασθενείς με πρωτοπαθές ΜΔΣ με MI, οι ασθενείς με t-MDS με MI, δεν παρουσίαζαν ηξημένο κίνδυνο εξέλιξης προς ΟΜΛ ή ελάττωσης της ολικής επιβίωσης²⁵.

Διαφορική διάγνωση

Στη καθημέρα κλινική πράξη προκύπτει πολλές φορές, ανάγκη διαφορικής διάγνωσης από μυελοϋπερπλαστικά νεοπλάσματα όπως την ΠΜΥ και την αληθή πολυκυτταραιμία (PV) (Πίνακας II). Αν και το ΜΔΣ-I και η ΠΜΥ παρουσιάζουν μερικά κοινά σημεία, τα κυτταρογενετικά ευρήματα και οι μοριακοί δείκτες διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των δύο οντοτήτων. Οι μεταλλάξεις της οδού JAK/STAT ευρίσκονται συχνά σε ασθενείς με Philadelphia (-) MYN και ΜΔΣ/MYN. Αντίθετα οι μεταλλάξεις αυτές ευρίσκονται σπάνια σε ΜΔΣ-I, από το οποίο τεκμαίρεται ότι πιθανόν δεν έχουν παθογενετικό ρόλο σε αυτούς τους ασθενείς²¹. Αυξημένη κυτταρικότητα μυελού, αυξημένος αριθμός CD34+ κυττάρων και πολυγραμμική δυσπλασία παρατηρούνται περισσότερο σε ΜΔΣ-I, ενώ η παρουσία πολλαπλών ομάδων δυσπλαστικών μεγακαρυοκυττάρων με πυρήνες που μοιάζουν με σύννεφο ή μπαλόνι (cloud-like or balloon-shaped) και η διάταση των κολποειδών μυελού με ενδοκολποειδική αιμοποίηση παρατηρούνται σε ΠΜΥ. Εάν τελικά τα ΜΔΣ-I αποτελούν νόσημα το οποίο ανήκει στα ΜΔΣ ή στα ΜΔΣ/MYN χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Θεραπεία

Δεν υπάρχουν συγκεκριμένες κατευθυντήριες οδηγίες για την θεραπεία ασθενών με ΜΔΣ-Ι. Η θεραπεία τους περιλαμβάνει υποστηρικτική αγωγή, ανοσοτροποποιητικούς παράγοντες (θαλιδομίδη), υπομεθυλιωτικούς παράγοντες (αζακυτιδίνη, ντεσιταμπίνη), χημειοθεραπεία και αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων.

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται μεμονωμένες μόνον περιπτώσεις επιτυχούς θεραπείας με θαλιδομίδη²⁶ και αζακυτιδίνη²⁷. Σε μία μεγάλη αναδρομική μελέτη του European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), σε 721 ασθενείς με ΜΔΣ χωρίς ίνωση (n=483), με μέτριου βαθμού ίνωση (n=199) και με υψηλού βαθμού ίνωση (n=39), βρέθηκαν τα παρακάτω αποτελέσματα²⁸. Οι ασθενείς χωρίς ή με μετρίου βαθμού ίνωση είχαν παρόμοια έκβαση, μετά από αλλογενή μεταμόσχευση, ενώ οι ασθενείς με υψηλού βαθμού ίνωση είχαν χειρότερη επιβίωση, με μικρότερο ποσοστό εγκατάστασης του μοσχεύματος και μεγαλύτερο διάστημα αποκατάστασης της λευκής σειράς. Η συχνότητα υποτροπών, στην 3ετία, ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς με υψηλού βαθμού ίνωση, σε σύγκριση με εκείνους με μετρίου βαθμού ή χωρίς ίνωση (47% vs 28% vs 27%, αντίστοιχα, p=0,04). Η 3ετής DFS σε ασθενείς με μέτρια ίνωση ήταν 38%, πολύ καλύτερη σε σχέση με ασθενείς με βαριά ίνωση (18%, p=0,002). Τελικά, η βαριά ίνωση αποτελούσε ανεξάρτητο παράγοντα μικρότερης ολικής επιβίωσης (hazard ratio: 1,9; p=0,006).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kuter DJ, Bain B, Mufti G, Bagg A, Hasserjian RP. Bone marrow fibrosis: pathophysiology and clinical significance of increased bone marrow stromal fibres. *Br J Haematol*. 2007;139:351-362.
2. Gomori G. Silver impregnation of reticulum in paraffin sections. *Am J Pathol*. 1937;13:993-1002.
3. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009;114:937-951.
4. Verhoef GE, De Wolf-Peeters C, Ferrant A, Deprez S, Meeus P, Stul M, et al. Myelodysplastic syndromes with bone marrow fibrosis: a myelodysplastic disorder with proliferative features. *Ann Hematol*. 1991; 63: 235-241.
5. Della Porta MG, Malcovati L. Myelodysplastic syndromes with bone marrow fibrosis. *Haematologica*. 2011;96:180-183.
6. Buesche G, Teoman H, Wilczak W, Ganser A, Hecker H, Wilkens L, et al. Marrow fibrosis predicts early fatal marrow failure in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2008;22:313-322.
7. Tefferi A. Pathogenesis of myelofibrosis with myeloid metaplasia. *J Clin Oncol*. 2005;23:8520-8530.
8. Bootcov MR, Bauskin AR, Valenzuela SM, Moore AG, Bansal M, He XY, et al. MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF-β superfamily. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94:11514-11519.
9. Lawton LN, Bonaldo MF, Jelenc PC, Qiu L, Baumes SA, Marcelino RA, et al. Identification of a novel member of the TGF-β superfamily highly expressed in human placenta. *Gene*. 1997;203:17-26.
10. Basil CF, Zhao Y, Zavaglia K, Jin P, Panelli MC, Voiculescu S, et al. Common cancer biomarkers. *Cancer Res*. 2006; 66:2953-2961.
11. Tanno T, Bhanu NV, Oneal PA, Goh SH, Staker P, Lee YT, et al. High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nat Med*. 2007;13:1096-1101.
12. Uchiyama T, Kawabata H, Miura Y, Yoshioka S, Iwasa M, Yao H, et al. The role of growth differentiation factor 15 in the pathogenesis of primary myelofibrosis. *Cancer Medicine*. 2015; 4:1558-1572.
13. Akiyama T, Matsunaga T, Terui T, Miyanishi K, Tanaka I, Sato T. Involvement of transforming growth factor-β and thrombopoietin in the pathogenesis of myelodysplastic syndrome with myelofibrosis. *Leukemia*. 2005;19:1558-1566.
14. Bauermeister DE. Quantitation of bone marrow reticulin - a normal range. *Am J Clin Pathol*. 1971;56:24-31.
15. Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, Franco V, van der Walt J, Orazi A. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica*. 2005;90:1128-1132.
16. Vener C, Fracchiolla NS, Gianelli U, Calori R, Radaelli F, Iurlo A, et al. Prognostic implications of the European consensus for grading of bone marrow fibrosis in chronic idiopathic myelofibrosis. *Blood*. 2008;111:1862-1865.
17. Campbell PJ, Bareford D, Erber WN, Wilkins BS, Wright P, Buck G, et al. Reticulin accumulation in essential thrombocythemia: prognostic significance and relationship to therapy. *J Clin Oncol*. 2009;27:2991-2999.
18. Buesche G, Hehlmann R, Hecker H, Heimpel H, Heinze B, Schmeil A, et al. Marrow fibrosis, indicator of therapy failure in chronic myeloid leukemia - prospective long-term results from a randomized-controlled trial. *Leukemia*. 2003;17:2444-2453.
19. Ramos F, Robledo C, Izquierdo-García FM, Suárez-Vilela D, Benito R, Fuertes M, et al. Bone marrow fibrosis in myelodysplastic syndromes: a prospective evaluation including mutational analysis. *Oncotarget*. 2016;21:30492-30503.
20. Kuter DJ, Bain B, Mufti G, Bagg A, Hasserjian RP. Bone marrow fibrosis: pathophysiology and clinical significance of increased bone marrow stromal fibres. *Br J Haematol*. 2007;139:351-362.

21. Della Porta MG, Malcovati L, Boveri E, Travaglino E, Pietra D, Pascutto C, et al. Clinical relevance of bone marrow fibrosis and CD34-positive cell clusters in primary myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2009;27:754-762.
22. Fu B, Jaso JM, Sargent RL, Goswami M, Verstovsek S, Medeiros LJ, et al. Bone marrow fibrosis in patients with primary myelodysplastic syndromes has prognostic value using current therapies and new risk stratification systems. *Mod Pathol*. 2014;27:681-689.
23. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, Galili N, Nilsson B, Garcia-Manero G, et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med*. 2011;364:2496-2506.
24. Loghavi S, Ibraheemi AA, Zuo Z, Garcia-Manero G, Yabe M, Wang SA, et al. TP53 overexpression is an independent adverse prognostic factor in de novo myelodysplastic syndromes with fibrosis. *Br J Haematol*. 2015;171:91-99.
25. Fu B, Ok CY, Goswami M, Xei W, Jaso JM, Muzzafar T, et al. The clinical importance of moderate/severe bone marrow fibrosis in patients with therapy-related myelodysplastic syndromes. *Ann Hematol*. 2013;92:1335-1343.
26. Tsirigotis P, Venetis E, Rontogianni D, Dervenoulas J, Kontopidou F, Apostolidis P. Thalidomide in the treatment of myelodysplastic syndromes with fibrosis. *Leuk Res*. 2002;26:965-966.
27. Okamuran D, Matsuda A, Ishikawa M, Maeda T, Tanae K, Kohri M, et al. Hematologic improvements in a myelodysplastic syndromes with myelofibrosis (MDS-F) patient treated with azacitidine. *Leuk Res Rep*. 2014;3:24-27.
28. Kröger N, Zabelina T, van Biezen A, Brand R, Niederwieser D, Martino R, et al. Allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes with bone marrow fibrosis. *Haematologica*. 2011;96:291-297.

Παροξυντική Νυκτερινή Αιμοσφαιρινουρία

ΣΤΥΛΙΑΝΗ Ι. ΚΟΚΟΡΗ¹, ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΚΑΛΑΝΤΖΗΣ¹, ΕΛΙΣΑΒΕΤ ΓΡΟΥΖΗ²

¹Αιματολογικό Εργαστήριο - Ν.Υ. Αιμοδοσίας, Π.Γ.Ν. “Αττικόν”, Αθήνα, ²Ν.Υ. Αιμοδοσίας, Α.Ο.Ν.Α. “Ο Άγιος Σάββας”, Αθήνα

Η παροξυντική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: PNH), μια ιδιαίτερη και σπάνια νοσολογική οντότητα, αποτελεί επίκτητη κλωνική διαταραχή του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου. Η κατανόηση του δύσκολου αλλά ταυτόχρονα εντυπωσιακού μηχανισμού που τη διέπει, αποτελεί πρόκληση όχι μόνο για τον αιματολόγο, αλλά για κάθε ιατρό που εμπλέκεται στη διάγνωσή της. Ο μηχανισμός αυτός έχει ως βάση το πολύπλοκο σύστημα του συμπληρώματος, το οποίο στην παρούσα νόσο διαταράσσεται με δυσμενείς και πολύπλοκες για τον πάσχοντα συνέπειες.

Παθοφυσιολογία της νόσου

Η παθοφυσιολογία της PNH αφορά σε μια επίκτητη σωματική μετάλλαξη που υφίσταται το γονίδιο PIG-A (phosphatidylinositol glycan class A gene - PIG-A) που εδράζεται στο βραχύ σκέλος του Χ-χρωμοσώματος (Χρ22.1). Το κρίσιμο αυτό γονίδιο περιέχει την πληροφορία για τη βιοσύνθεση μιας ιδιαίτερης γλυκολιπιδικής δομής που ονομάζεται γλυκοσυλ-φωσφατιδυλ-ινοσιτόλη άγκυρα (Glycosyl-phosphatidyl-inositol anchor, GPI) και εδράζεται στην κυτταρική μεμβράνη. Η GPI δομή αποτελεί φυσιολογικά συνδέτη-άγκυρα για μια μεγάλη ομάδα εξκυττάρων πρωτεϊνών (>12) που συνδέονται μέσω αυτού του τύπου άγκυρας στην κυτταρική μεμβράνη, και οι οποίες λόγω αυτής της ιδιότητάς τους ονομάζονται GPI anchor proteins (GPI-APs).¹

Η άγκυρα αυτή συντίθεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και απαιτούνται πάνω από 10 στάδια και πάνω από 30 προϊόντα γονιδίων για τη σύνθεσή της. Το PIG-A είναι υπεύθυνο για την παραγωγή μιας από τις

επτά πρωτεΐνες που εμπλέκονται στο πρώτο στάδιο παραγωγής της άγκυρας. Επειδή εδράζεται στο Χ χρωμόσωμα μπορεί να αδρανοποιείται από μια μόνο μετάλλαξη δεδομένου ότι οι άνδρες φέρουν ένα Χ χρωμόσωμα, ενώ οι γυναίκες είναι λειτουργικά απλοειδείς. Συνεπώς οι μεταλλάξεις στο PIG-A οδηγούν σε διαταραχή της σύνθεσης της άγκυρας, με αποτέλεσμα την παραγωγή μερικώς ή ολικώς μη λειτουργικής GPI άγκυρας, που οδηγεί με τη σειρά της σε μερική ή ολική αδυναμία έκφρασης των GPI-APs στην κυτταρική μεμβράνη.^{1,2} Προσφάτως ανακοινώθηκε η ανεύρεση μιας σπάνιας περίπτωσης ασθενούς που έφερε κληρονομική μετάλλαξη στο ένα αλληλίο ενός άλλου γονιδίου της GPI βιοσύνθεσης, του PIG-T (εδράζεται στο αυτοσωματικό χρωμόσωμα 20), με ταυτόχρονη συνύπαρξη επίκτητης μετάλλαξης στο άλλο αλληλίο του, γεγονός που οδήγησε σε αδυναμία παραγωγής της άγκυρας και κλινική εικόνα ως επί PNH.³

Η μετάλλαξη PIG-A αφορά στο αρχέγονο πολυδύναμο αιμοποιητικό κύτταρο (hematopoietic stem cell, HSC) οπότε και οι απόγονοί του (ερυθρά, λευκά αιμοσφαίρια και αιμοπετάλια (ΑΜΠ)) “φέρουν” επίσης αυτή τη διαταραχή. Η επίκτητη αυτή μετάλλαξη του PIG-A γονιδίου είναι αναγκαία, αλλά όχι ικανή από μόνη της να προκαλέσει την PNH νόσο, αφού ο παθολογικός κλώνος κυττάρων που την εμφανίζει μπορεί να καταστέλλεται στο φυσιολογικό μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών (ΜΟ). Φυσιολογικοί και παθολογικοί κλώνοι μπορεί να συνυπάρχουν στον ΜΟ και το αίμα των ασθενών. Η υπόθεση ότι η PNH αναπτύσσεται μόνον όταν ένα γεγονός “επιλογής” ανατρέψει την υπάρχουσα ισορροπία και δημιουργήσει ένα περιβάλλον που θα επιτρέψει στον PNH κλώνο να εκπτυχθεί εκλεκτικά συγκριτικά με την υπολειπόμενη

αιμοποίηση, αποτελεί πρόκληση για τον ερευνητή. Έχουν αναφερθεί οι κάτωθι υποθέσεις²: i) Το γεγονός αυτό μπορεί να αφορά μια τυχαία επιλογή, ώστε από ένα μεταλλαγμένο PIG-A HSC να παραχθεί μεγάλος αριθμός κυττάρων GPI(-) (genetic drift), ii) μπορεί το μικροπεριβάλλον του MO να δίνει στο GPI(-) κλώνο πλεονέκτημα ανάπτυξης μέσω ανοσολογικών διεργασιών, και iii) επιπρόσθετες μεταλλάξεις συμμετέχουν στο πλεονέκτημα ανάπτυξης που οδηγεί στην κλωνική κυριαρχία των GPI(-) μεταλλαγμένων κυττάρων και είναι παρούσες σε γονίδια γνωστά για την συμμετοχή τους σε νοσήματα όπως μυελοδυσπλαστικά ή μυελοϋπερπλαστικά: π.χ. HMGA2, JAK2, CARL, BCR-ABL.^{4,5}

Προφανώς, το ανοσολογικό σύστημα έχει τη δυνατότητα να αναγνωρίζει χημικές δομές που χαρακτηρίζουν τα προγονικά GPI(+) από τα GPI(-) κύτταρα. Μέσω μιας αυτοάνοσης διαδικασίας τα αυτοδραστικά T- λεμφοκύτταρα στοχεύουν τα GPI(+) και όχι τα GPI(-) τα οποία διαφεύγουν της επίθεσης («escape» hypothesis), και καθίστανται ανθεκτικά στην απόπτωση. Ο στόχος φαίνεται ότι είναι το ίδιο το γλυκολιπιδικό GPI μόριο και η παρουσίασή του στα CD8+ T-λεμφοκύτταρα γίνεται μέσω του πολυμορφικού μορίου που βρίσκεται πάνω στα HSCs, του CD1d. Ένας πληθυσμός αυτοδραστικών T λεμφοκυττάρων έχουν στον υποδοχέα τους μια χαρακτηριστική αμετάβλητη TCRα αλυσίδα (invariant) και αναγνωρίζουν το CD1d των HSCs, οπότε μπορεί να είναι υπεύθυνα για την ανάπτυξη μυελικής ανεπάρκειας στην PNH. Τα GPI (-) HSCs δεν συνθέτουν GPI και διαφεύγουν της επίθεσης των T αυτοαντιδραστικών λεμφοκυττάρων οπότε αναπτύσσεται ο PNH κλώνος.^{2,6}

Στην PNH χαρακτηριστικά λείπουν μερικώς ή πλήρως δύο ειδικές ρυθμιστικές GPI-APs, λόγω μερικής ή πλήρους έλλειψης της άγκυράς τους: η πρωτεΐνη CD55 και η CD59. Οι πρωτεΐνες αυτές παίζουν ρυθμιστικό ρόλο στη δράση του συστήματος του συμπληρώματος (C) και είναι υπεύθυνες ώστε να εμποδίζεται η συνεχής ενεργοποίηση και δράση του έναντι των κυττάρων του ίδιου οργανισμού. Υπάρχουν τρεις οδοί ενεργοποίησης του C, η κλασική, της λεκτίνης και η εναλλακτική οδός, οι οποίες ενεργοποιούνται μέσω μιας σειράς αλυσιδωτών αντιδράσεων και συμμετοχής μιας μεγάλης ομάδας πρωτεϊνών με ειδική δράση στον ενζυμικό αυτό καταρράκτη. Ειδικά η πρωτεΐνη CD55 (επιταχύνων τη διάσπαση παράγοντας, DAF) αναστέλλει τον σχηματισμό ή αποσταθεροποιεί τις κομβερτάσες (convertase) C3 (C3bBb και C4b2a) και C5 που αποτελούν ένζυμα τα οποία συμμετέχουν στην ενεργοποίηση του καταρράκτη του C. Η CD59 (μεμβρανικός αναστολέας της αντιδραστικής λύσης,

MIRL) προστατεύει την κυτταρική μεμβράνη από την επίθεση του τελικού συμπλέγματος MAC (Membrane Attack Complex: σύμπλεγμα συστατικών C5-C9) μέσω αναστολής συσσώρευσης του συστατικού C9. Επομένως, η έλλειψη ή η μειωμένη έκφραση των ανωτέρω πρωτεϊνών από τα αιμοποιητικά κύτταρα τα καθιστά ευαίσθητα στη λυτική δράση του C και αποτελεί την παθοφυσιολογική βάση της PNH.⁷⁻⁹

Η επίπτωση της νόσου είναι 1-5 περιπτώσεις/εκατομμύριο κατοίκων, ανεξαρτήτου εθνικότητας και φύλου και με μέση ηλικία προσβολής τα 30-40 έτη. Μπορεί να εμφανισθεί και σε άτομα μεγάλης ηλικίας και σπανίως σε παιδιά. Η διάγνωσή της μπορεί να διαλάθει, όταν εκδηλώνεται με ήπια κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά (ακόμη και αρκετά χρόνια από την έναρξη της νόσου), αλλά ακόμη και όταν έχει θορυβώδη κλινική εικόνα γιατί μπορεί να μιμείται άλλα νοσήματα. Αυτόματες υφέσεις της νόσου παρατηρούνται στο 15% των περιπτώσεων, ενώ η μέση επιβίωση κυμαίνεται στα 10-15 έτη.¹⁰

Εργαστηριακά ευρήματα

Το κύριο χαρακτηριστικό εύρημα της κλινικά εμφανούς κλασικής PNH είναι η αιμολυτική αναιμία με αρνητική τη δοκιμασία άμεσης Coombs. Η αιμόλυση είναι ενδοαγγειακή, χρόνια και ενίοτε παροξυντική, αναλόγως της χαμηλής ή της έντονης ενεργοποίησης της λυτικής δράσης του MAC στα ερυθροκύτταρα λόγω μερικής ή ολικής έλλειψης του CD59. Θεωρείται χρόνια λόγω της συνεχούς ενεργοποίησης του C, που ξεκινά από την τυχαία-αυτόματη υδρόλυση του C3 από παράγοντες της εναλλακτικής οδού (tick-over phenomenon). Υφίσταται και βαθμός εξωαγγειακής αιμόλυσης που ξεκινά με την αυξημένη οψωνοποίηση των ερυθρών από τα θραύσματα του C3 (κυρίως C3d) λόγω έλλειψης του CD55. Τα οψωνοποιημένα ερυθρά καθαίρονται και καταστρέφονται από κύτταρα του ΔΕΣ, αλλά η εξωαγγειακή είναι χαμηλότερου βαθμού από την ενδοαγγειακή και γι' αυτό το λόγο δεν είναι εμφανής.⁹

Χαρακτηρίζεται από αύξηση του αριθμού δικτυοερυθροκυττάρων (ΔΕΚ), ελάττωση των απτοσφαιρινών, αύξηση της έμμεσης χολερυθρίνης, αύξηση των επιπέδων γαλακτικής δεϋδρογενάσης LDH (>3000 IU/L σε παροξυντική φάση της αιμόλυσης), αιμοσφαιριναιμία και ανάπτυξη σιδηροπενίας. Η αιμοσφαιρινουρία με υπέρχρωση των πρωινών ούρων στο 26% των ασθενών είναι χαρακτηριστικό, αλλά όχι αναγκαίο εύρημα. Ενώ η αναιμία είναι αιμολυτικού τύπου, συχνά συνοδεύεται και από πανκυτταροπενία ή θρομβοπενία. Παροξυντικές κρίσεις αιμόλυσης απαντώνται συχνά:

μπορεί να εμφανίζονται με περιοδικότητα ή συχνότερα είναι απρόβλεπτες και πυροδοτούνται από παρουσία σύγχρονης λοίμωξης ή άλλων παραγόντων που ενεργοποιούν το C (χειρουργείο, εντατική άσκηση, λήψη αλκοόλ).^{11,12}

Κλινικές εκδηλώσεις-πολυσυστηματική νόσος

Μονοξέδιο του αζώτου (NO)

Το NO (NO: ένα άτομο οξυγόνου και ένα άτομο αζώτου) αποτελεί κύριο ρυθμιστή του αγγειακού τόνου. Η αργινίνη είναι το πρωταρχικό συστατικό-αμινοξύ που χρησιμοποιείται ως βάση για τον σχηματισμό του. Στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων το κυτταροπλασματικό ένζυμο συνθετάση του NO (NO synthase: NOS) δρα στο υπόστρωμα L-αργινίνη και οδηγεί στην παραγωγή NO και κιτρουλίνης. Η ενζυμική δραστηριότητα της NOS είναι ελεγχόμενη και βασίζεται στη διαθεσιμότητα υποστρώματος και συμπαραγόντων, τα οποία με τη σειρά τους εμπλέκονται επίσης και σε άλλα βιοχημικά μονοπάτια.⁹

Κατά την έντονη αιμόλυση τα ερυθρά παράγουν το ένζυμο ερυθροκυτταρική αργινάση που δρα στα ενδοθηλιακά κύτταρα και αποδομεί την L-αργινίνη σε ορνιθίνη μειώνοντας έτσι την κύρια πηγή παραγωγής και σύνθεσης NO.

Από την άλλη, η λύση των ερυθρών οδηγεί σε μεγάλη αύξηση των επιπέδων της κυκλοφορούσας ελεύθερης αιμοσφαιρίνης, που οδηγεί σε μείωση των επιπέδων και της διαθεσιμότητας του κυκλοφορούντος NO μέσω δέσμευσής του. Η μείωση του NO οδηγεί με τη σειρά της σε μείωση ενεργοποίησης της διαλυτής κυτταροπλασματικής γουανυλικής κυκλάσης (sGC). Οι γουανυλικές κυκλάσες είναι μέλη μιας μεγάλης οικογένειας νουκλεοτιδικών κυκλάσων, οι οποίες καταλύουν τη μετατροπή ενός πουρινικού τριφωσφορικού νουκλεοτιδίου της GTP (τριφωσφορική γουανοσίνη) σε ένα κυκλικό μονοφωσφορικό νουκλεοτίδιο την GMP (κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη). Τα κυκλικά αυτά μονοφωσφορικά νουκλεοτίδια, ακολούθως, δρουν ως δευτεροί αγγελιοφόροι για μεγάλο αριθμό μοριακών σημάτων μέσα στο κύτταρο (μονοπάτι μετάδοσης σήματος: NO- sGC- GMP) και οδηγούν σε ενεργοποίηση διαφόρων πρωτεϊνικών κινασών (πρωτεϊνική κινάση G (protein kinase G: αποτελεί δραστικό παράγοντα φωσφορυλίωσης). Το cGMP είναι σημαντικό σηματοδοτικό μόριο, υπεύθυνο για τη ρύθμιση πολλών κυτταρικών λειτουργιών στους ιστούς, με κυρίαρχο το ρόλο του στη χάλαση των λείων μυϊκών ινών και την αναστολή της συσώρευσης και της ενεργοποίησης των ΑΜΠ.¹³

Η μείωση του NO επομένως, είναι υπεύθυνη για την πρόκληση αγγειοσύσπασης, για ενεργοποίηση των ΑΜΠ και ευόδωση της συσώρευσης και της προσκόλλησής τους στο αγγειακό ενδοθήλιο. Η μείωσή του σε ιστικό επίπεδο οδηγεί σε δυστονία των λείων μυϊκών ινών, με επακόλουθα συμπτώματα δυσφαγία, οισοφαγικό σπασμό, οπισθοστερνικό άλγος, άτυπα κοιλιακά άλγη (στο 35%) και στυτική δυσλειτουργία (κυρίως σε αιμολυτική κρίση). Τα συμπτώματα αυτά είναι κυρίως εμφανή σε ασθενείς με PNH που έχουν μεγάλο κλώνο κυκλοφορούντων PNH κυττάρων (>60% στα ουδετερόφιλα).¹⁴

Σε ένα ποσοστό ασθενών αναφέρεται δύσπνοια που μπορεί να οφείλεται στην αναιμία αλλά και να αποτελεί πρώιμο κλινικό χαρακτηριστικό πνευμονικής υπέρτασης και καρδιακής δυσλειτουργίας. Η πνευμονική υπέρταση πολλές φορές υποδιαγιγνώσκεται λόγω των μη ειδικών συμπτωμάτων που έχει. Η νεφρική βλάβη μπορεί να μην γίνει αμέσως αντιληπτή. Η αιμοσφαιρινουρία και η αιμοσιδηρινουρία μπορεί να οδηγήσουν σε οξεία ή χρόνια νεφρική ανεπάρκεια ή οξεία σωληναριακή νέκρωση.^{15,16}

Κυτταροπενίες

Οι κυτταροπενίες στην PNH είναι συχνές, ήπιες έως σοβαρές, μπορεί να αφορούν δύο ή και τρεις σειρές (αναιμία: 88%-94%, λευκοπενία: 41-72%, θρομβοπενία: 51-80%) και εξαρτώνται και από την υποκείμενη συνυπάρχουσα βλάβη στον ΜΟ (σχετική ή απόλυτη μυελική ανεπάρκεια). Απλαστική αναιμία (AA) μπορεί να αναπτυχθεί κατά την πορεία της PNH και το αντίθετο (vice versa) (AA/PNH syndrome), ενώ και τα δύο μπορεί να προδιαθέτουν σε οξεία λευχαιμία και μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (ΜΔΣ).¹⁷⁻¹⁹ Κλώνοι PNH κυττάρων μπορεί επίσης να ανιχνεύονται σε ποσοστό ~50% ασθενών κατά τη διάγνωση AA, καθώς και σε ~35% ασθενών με ΜΔΣ (εξαρτάται βέβαια από τη μέθοδο ανίχνευσης κλώνων PNH).²⁰ Η PNH μπορεί να προηγείται ή να ακολουθεί την εμφάνιση ΜΔΣ.²¹ Επίσης σε παιδιά με AA ή ΜΔΣ επιβάλλεται η αναζήτηση κλώνου PNH και η εγρήγορση για την εμφάνιση εργαστηριακών ευρημάτων αιμόλυσης.²²⁻²⁴

Οι παθοφυσιολογικοί δεσμοί ανάμεσα στην PNH, την AA και τα ΜΔΣ και οι ανοσολογικοί μηχανισμοί που τα διέπουν είναι υπό συνεχή μελέτη.

Θρόμβωση

Αποτελεί χαρακτηριστικό εύρημα και μπορεί να επισυμβεί σε οποιαδήποτε θέση. Επέρχεται στο 30-40% των ασθενών και αποτελεί δυσοσίωση και αιφνίδια

επιπλοκή και κύρια αιτία θανάτου (40-67%). Δίκαία ο Luzzato αναφέρει την PNH ως την πιο ύπουλη επίκτητη θρομβοφιλική κατάσταση γνωστή στην ιατρική. Πολλαπλοί μηχανισμοί εμπλέκονται στην παθογένεσή της, με την παθοφυσιολογία της όμως να παραμένει ακόμη δυσνόητη και υπό συνεχή ερευνητική μελέτη.²⁵

Η μερική ή ολική απουσία των CD55 και CD59 από την μεμβράνη ερυθρών, λευκών και ΑΜΠ οδηγεί σε μεταβολές στη μεμβράνη τους. Η φωσφολιπιδική μεμβρανική ασυμμετρία (που χαρακτηρίζει τη δυναμική της φυσιολογικής κυτταρικής μεμβράνης) χάνεται και η μετακίνηση του αρνητικά φορτισμένου φωσφολιπιδίου φωσφατιδυλοσερίνη από την εσωτερική στην εξωτερική επιφάνεια της μεμβράνης, αποτελεί τη μεταβολή-κλειδί για την παθογένεση της θρόμβωσης. Η ως άνω μεταβολή οδηγεί αφενός στην εμφάνιση θέσεων σύνδεσης των προπηκτικών συμπλεγμάτων και αφετέρου στο σχηματισμό και την απόσπαση από την μεμβράνη μικροσωματιδίων με προπηκτικές ιδιότητες.²⁶⁻²⁸ Για τη θρομβογένεση μπορεί να ευθύνεται επίσης η μειωμένη ινωδολυτική δραστηριότητα (ο μεμβρανικός υποδοχέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης- uPAR είναι GPI-AP και υποεκφράζεται στα PNH κύτταρα), καθώς και η ενεργοποίηση κυρίως των ΑΜΠ αλλά και των ουδετεροφίλων και ενδοθηλιακών κυττάρων λόγω αυξημένης παραγωγής φλεγμονωδών κυτταροκινών και μείωσης του NO.^{20,29,30}

Η θρόμβωση μπορεί να αναπτυχθεί σε οποιαδήποτε θέση (κυρίως κοιλιακή χώρα και εγκέφαλο) και αφορά συχνότερα το φλεβικό (85%), αλλά και το αρτηριακό δίκτυο (15%).^{25,31} PNH κλώνος ανευρέθη σε ποσοστό 9-19% ασθενών με θρόμβωση των ηπατικών φλεβών (Budd-Chiari syndrome) και σε ~2% με θρόμβωση της πυλαίας φλέβας. Η θρόμβωση επέρχεται ανεξάρτητα από το μέγεθος του κλώνου και το βαθμό αιμόλυσης. Φαίνεται να υπάρχει στενή σύνδεση ανάμεσα στον καταρράκτη του C και τον καταρράκτη της πήξης που δεν έχει πλήρως διερευνηθεί. Έλεγχος PNH συστήνεται ανεξάρτητα από τα επίπεδα LDH, στους κάτωθι ασθενείς με ανεξήγητη θρόμβωση: 1) σε νέα άτομα, 2) σε ασυνήθη θέση (όπως ενδοκοιλιακές θρομβώσεις, θρόμβωση εγκεφαλικών φλεβών, θρομβώσεις δερματικού φλεβικού δικτύου), 3) με συνοδές ενδείξεις αιμόλυσης και 4) με συνοδό κυτταροπενία.³²

Διάγνωση

Προηγούμενες μέθοδοι διάγνωσης της PNH αποτελούσαν η δοκιμασία του οξινισθέντος ορού (Ham test), η δοκιμασία αιμόλυσης σε σουκρόζη (Sucrose

lysis), ενώ μια απλή ημιποσοτική μέθοδος είναι και η χρήση μικροσωληναρίων γέλης sephacryl με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι CD55 και CD59.¹⁵ Η μέθοδος εκλογής για τη διάγνωση της, είναι η κυτταρομετρία ροής, με την οποία η αναγνώριση των παθολογικών αιμοποιητικών κυττάρων βασίζεται στην απουσία έκφρασης των CD55, CD59 και άλλων ειδικών αντιγόνων από την επιφάνεια των ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων. Η κυτταρομετρία ροής με την νέα τεχνική FLAER (Fluorescent labeled aerolysin), που αναγνωρίζει και δεσμεύεται εκλεκτικά στην GPI άγκυρα μόνο στα λευκά αιμοσφαίρια, είναι μέθοδος αξιόπιστη ακόμη και για ανίχνευση πολύ μικρών κλώνων PNH κυττάρων (<0,01%) στο αίμα (όπως στην ΑΑ και ΜΔΣ) και πρέπει να διενεργείται σε εξειδικευμένα εργαστήρια, δεδομένου ότι τα PNH ερυθρά έχουν μικρό χρόνο ημισείας ζωής και δεν είναι αρκετά ευαίσθητα στο να αναδείξουν μικρούς κλώνους <1%. Τα άτομα με παρουσία PNH κλώνου <10% χρήζουν παρακολούθησης και επανελέγχου κάθε 6-12 μήνες λόγω του κινδύνου έκπτωσης του κλώνου.³³

Το International PNH Interest Group (IPIG) αναγνωρίζει τρεις κύριες κατηγορίες PNH: 1) κλασική με εμφανές αιμολυτικό ή και θρομβωτικό επεισόδιο, 2) PNH στο πλαίσιο συνύπαρξης με σύνδρομο ανεπάρκειας MO, όπως η ΑΑ και τα ΜΔΣ και 3) υποκλινική όπου ανιχνεύονται μικροί κλώνοι PNH, χωρίς όμως εμφανή κλινικά ή εργαστηριακά σημεία αιμόλυσης ή θρόμβωσης.³⁴

Πολύ μικροί κλώνοι PNH κυττάρων έχουν περιγραφεί ακόμη και σε φυσιολογικά άτομα (0.002-0.003% PNH κλώνοι στα λευκά) καθώς και σε ασθενείς με άλλα νοσήματα, όπως αυτοάνοσα,³⁵ λεμφοϋπερπλαστικά³⁶, και πλασματοκυτταρικές δυσκρασίες (πολλαπλούν μυέλωμα).^{37,38}

Θεραπεία

Μέχρι προσφάτως η θεραπεία της PNH ήταν εμπειρική και συμπτωματική με τη χορήγηση μεταγγίσεων αίματος, συμπληρωματικής αγωγής με φυλλικό οξύ και σίδηρο, αντιπηκτικής αγωγής επί θρομβώσεων και επί ενδείξεων ανοσοκατασταλτικής αγωγής. Η αλλογενής μεταμόσχευση μυελού των οστών αποτελεί δυνητικά τη μόνη θεραπεία, αλλά η σύστασή της ακολουθεί απόλυτες θεραπευτικές ενδείξεις λόγω των σοβαρών επιπλοκών της.

Η ανακάλυψη νέων πρωτοποριακών φαρμάκων παρέμβασης στον τρόπο δράσης του συμπληρώματος οδηγεί σε δυνατότητα ελέγχου του νοσήματος και βελτίωσης των συμπτωμάτων και των εργαστηριακών ευρημάτων των ασθενών, καθώς και σε αύξηση του

προσδόκιμο επιβίωσής τους που είναι συγκρίσιμο με αυτό του φυσιολογικού πληθυσμού.³⁹

Η ανακάλυψη της εκουλιζουμάμπης (eculizumab: ECU) άλλαξε την προσέγγιση της νόσου. Το 2007 το FDA ενέκρινε τη χορήγησή του στην PNH με βάση την αποτελεσματικότητά του σε δύο μεγάλες κλινικές μελέτες (TRIUMPH Study και SHEPERD Study). Το 2010 το φάρμακο έλαβε έγκριση και στην Ιαπωνία.

Αποτελεί ένα ανασυνδυασμένο ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα που δεσμεύεται εκλεκτικά στην πρωτεΐνη C5 του C. Με αυτό τον τρόπο αναστέλλει τη διάσπαση του C5 σε C5a και C5b και τη δημιουργία του MAC και με αυτό τον τρόπο αντισταθμίζει την έλλειψη του CD59, οδηγώντας έτσι και σε αναστολή της ενδοαγγειακής αιμολυτικής διαδικασίας. Το ECU μειώνει το ρυθμό ενδοαγγειακής αιμόλυσης στους ασθενείς, με αποτέλεσμα περίπου τα 2/3 των ασθενών που είναι μεταγγισιοεξαρτώμενα να καθίστανται ανεξάρτητα από τις μεταγγίσεις. Συμπτώματα όπως η δυσφαγία, τα κοιλιακά άλγη και η στυτική δυσλειτουργία υποχωρούν σημαντικά. Η ποιότητα ζωής των ασθενών και το αίσθημα κόπωσης βελτιώνονται. Οι ασθενείς υπό ECU παρουσίασαν επίσης σύμφωνα με μελέτες κατά 92% συνολική μείωση των θρομβωτικών επεισοδίων.⁴⁰

Ένα ποσοστό όμως ασθενών σε ECU συνεχίζουν να εμφανίζουν ήπια έως μέτρια εξωαγγειακή αιμόλυση που αποδίδεται στην συνεχιζόμενη διάσπαση του C3 (λόγω έλλειψης του CD55 που δεν αντισταθμίζεται από το ECU), καθώς και στην εναπόθεση του C3d στα PNH ερυθρά που οδηγεί στην πρόωρη απομάκρυνσή τους από τα μονοκύτταρα/μακροφάγα στο σπλήνα και το ήπαρ. Αυτό εξηγεί τη διαπίστωση ότι >50% των ECU ασθενών, αναπτύσσουν θετική την άμεση Coombs (C3θετική, αλλά IgG αρνητική), σε συνδυασμό με αναιμία και αυξημένα ΔΕΚ και περίπου 25-35% αυτών που λαμβάνουν ECU συνεχίζουν να έχουν απαίτηση για μεταγγίσεις.^{33,41,42}

Επιπλέον, η γενετική ποικιλομορφία μπορεί να διαμορφώνει τη δέσμευση του C3. PNH ασθενείς που φέρουν πολυμορφισμό στο γονίδιο του υποδοχέα 1 του συμπληρώματος (CR1/CD35) είναι πιο πιθανό να μην έχουν τη βέλτιστη ανταπόκριση στο ECU. Ο CR1 (στα λευκά και ερυθρά) δεσμεύει επιλεκτικά τα C3b, iC3b και C4b και ενισχύει τη διάσπαση των C3 και C5 κομβερτασών. Η πυκνότητα του CR1 στην επιφάνεια των ερυθρών ρυθμίζει τη δέσμευση των C3 θραυσμάτων στα GPI (-) ερυθρά όταν το C5 αναστέλλεται. Ο πολυμορφισμός που οδηγεί σε χαμηλά επίπεδα CR1 (L/L phenotype), συγκριτικά με τα ενδιάμεσα (H/L phenotype) ή υψηλά επίπεδα (H/H phenotype) του CR1, είναι πιο πιθανό να οδηγήσει

σε πτωχή ανταπόκριση στο ECU. Πρόσφατη επίσης είναι η παρατήρηση ότι στο 3.5% του πληθυσμού των Ιαπώνων ανευρίσκεται ο πολυμορφισμός c.2654G→A, Arg885His του C5 (single missense C5 heterozygous mutation), ο οποίος αποτρέπει τη σύνδεση και τον αποκλεισμό του C5 από το ECU και διατηρεί την λειτουργική ικανότητα του C5 να προκαλεί αιμόλυση.^{10,43}

Ο μεγαλύτερος κίνδυνος από την αναστολή της τελικής οδού του C είναι οι λοιμώξεις από Gram (-) διπλόκοκκους. Ο κίνδυνος εμφάνισης σηψαιμίας από *Neisseria meningitides* και *gonorrhoeae*, ανέρχεται ετησίως στο 0,5%, ενώ στη δεκαετία στο 5%. Δύο εβδομάδες πριν την έναρξη της θεραπείας είναι υποχρεωτική η χορήγηση εμβολίου έναντι μηνιγγιτιδοκόκκου και ο επανεμβολιασμός κάθε 3-5 χρόνια. Το τετραδύναμο εμβόλιο κατά του μηνιγγιτιδοκόκκου (Menveo) κυκλοφορεί σε πενήντα χώρες και περιέχει τους ορότυπους A, C, W135 και Y. Τελευταία έχει κυκλοφορήσει παγκοσμίως το Bexsero (Europe), το οποίο παρέχει προστασία από την ορομάδα B του μηνιγγιτιδοκόκκου, ενδείκνυται για όλες τις ηλικιακές ομάδες, χορηγείται πριν την έναρξη θεραπείας, ενώ σε αυτούς που ήδη λαμβάνουν ECU, χορηγείται την ημέρα χορήγησης του φαρμάκου αφού ενεργοποιεί το C και μπορεί να προκαλέσει αύξηση στο ρυθμό αιμόλυσης.⁴⁴ Επίσης χορηγούνται εμβόλια έναντι αιμοφίλου ινφλουέντζας B και πνευμονιοκόκκου.

Συζητείται η συνεχής προφυλακτική χορήγηση πενικιλίνης σε νεώτερους κυρίως ασθενείς (Penicillin V or erythromycin 500mg x2/day). Δεδομένου ότι οποιαδήποτε λοίμωξη μπορεί να ενεργοποιήσει αιμόλυση, οι ασθενείς εκπαιδεύονται ώστε να αναγνωρίζουν τα συμπτώματά της και επί υποψίας λαμβάνουν σιπροφλοξασίνη 750mg x2 ημερησίως, έως ότου έχουν πρόσβαση στο νοσοκομείο παρακολούθησής τους. Σε αιμολυτικό επεισόδιο (π.χ. λόγω λοίμωξης ή χειρουργείου) συνιστάται μείωση ενδιάμεσου χρόνου χορήγησης ή αύξηση της χορηγούμενης δόσης του φαρμάκου.

Η παρακολούθηση των ασθενών σε ECU περιλαμβάνει γενική αίματος, ΔΕΚ, LDH και βιοχημικό έλεγχο ανά εβδομάδα για τις πρώτες 4 εβδομάδες και μετά ανά μήνα. Ο έλεγχος με κυτταρομετρία ροής γίνεται ανά έτος, ενώ σε ασθενείς με εμμένουσα αιμόλυση γίνεται άμεση Coombs.¹

Ενδείξεις χορήγησης ECU

Σε PNH ασθενείς που έχουν ήπια ή καθόλου συμπτώματα, ακολουθείται η στρατηγική του watchful waiting ανεξάρτητα από το μέγεθος του κλώνου. Σε κλώνο <10% χωρίς συμπτώματα, συστήνεται

η παρακολούθηση του μεγέθους του κλώνου κάθε έξι μήνες. Σοβαρού βαθμού αναιμία, θρομβωτικό επεισόδιο, συχνόι παροξυσμοί κοιλιακού άλγους, έντονη κόπωση, επιδεινούμενη νεφρική ανεπάρκεια ή δύσπνοια αποτελούν ενδείξεις έναρξης θεραπείας.¹

Η θεραπευτική απόφαση δεν στηρίζεται μόνο στο μέγεθος του κλώνου. Ωστόσο, ασθενείς με μεγάλο κλώνο (>50% στα κοκκιοκύτταρα και >10% στα ερυθροκύτταρα), με αυξημένη τιμή LDH (δείκτης ενδοαγγειακής αιμόλυσης) και αυξημένα ΔΕΚ είναι αυτοί που πιθανά θα ωφεληθούν περισσότερο από το ECU. Το ECU δεν φαίνεται να βελτιώνει τη μυελική ανεπάρκεια. Οι ασθενείς με προοδευτική μυελική ανεπάρκεια λόγω AA (υποκυτταρικός μυελός, σοβαρή θρομβοπενία και χαμηλά ΔΕΚ) δεν είναι σαφές ότι αντλούν όφελος. Σε αυτούς τους ασθενείς (AA με μικρό PNH κλώνο) είναι προτιμότερη η έναρξη ανοσοκατασταλτικής θεραπείας (κυκλοσπορίνη, αντιθυμοκυτταρική σφαιρίνη, αντι-CD20).⁴⁵⁻⁴⁷

Το κόστος του ECU είναι υψηλό. Συνεπώς δεν είναι διαθέσιμο σε αρκετές χώρες, οπότε είναι σημαντικό να προτείνεται πολιτική αντιμετώπισης θρομβώσεων. Το IPIG προτείνει προφύλαξη με ανταγωνιστές βιταμίνης (VKA) σε >50% PNH κλώνο και απουσία αντενδείξεων (θρομβοπενία ή άλλοι αιμορραγικοί κίνδυνοι). Αν και δεδομένα από μελέτες δεν υπάρχουν ακόμη, συζητείται η αντικατάσταση των κουμαρινικών με τα νεότερα από του στόματος αντιπηκτικά (NOACS ή DOACS).⁴⁸ Επίσης εκτιμάται και η συνύπαρξη άλλων θρομβοφιλικών παραγόντων (π.χ. έλλειψη αντιθρομβίνης ή μετάλλαξη G20210A) και επί παρουσίας τους, έστω και αν ήδη λαμβάνει ο ασθενής ECU, προστίθεται και αντιπηκτική αγωγή. Υπάρχει ένα ποσοστό ασθενών που η πρώτη εκδήλωση της νόσου είναι η θρόμβωση, οπότε η έναρξη ECU αμέσως θεωρείται λογική επιλογή.⁴⁹ Αν όμως αυτό δεν είναι δυνατό συζητείται επί ενδείξεων η χορήγηση θρομβολυτικής αγωγής με ιστικό ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (t-PA). Στην περίπτωση PNH και δευτεροπαθούς - σε θρόμβωση πυλαίας ή σπληνικής φλέβας - σπληνομεγαλίας με συνοδό υπερσπληνισμό, συστήνεται ο εκλεκτικός εμβολισμός της σπληνικής αρτηρίας, που μειώνει το μέγεθος του σπλήνα και βελτιώνει τις κυτταροπενίες. Αυτή η τεχνική μπορεί να εφαρμοστεί και στην εξωαγγειακή αιμόλυση από το ECU. Έχουν επίσης περιγραφεί περιστατικά ασθενών που αντιμετωπίστηκαν με αγγειοπλαστική κάτω κοίλης φλέβας ή ηπατικών φλεβών ή τοποθέτηση διασφαγιτιδικής ενδοηπατικής πυλαιοσυστηματικής αναστόμωσης (TIPS).^{39,50}

Ο συνδυασμός αντιαιμοπεταλιακής αγωγής και βαρφαρίνης ή LMWH είναι υπό συζήτηση λόγω του αυξημένου κινδύνου αιμορραγίας. Αποδεδειγμένη

φλεβική θρόμβωση αντιμετωπίζεται ως τυπική φλεβική θρόμβωση με LMWH ή VKA. Επί ανάπτυξης HIT (θρομβοπενία από ηπαρίνη) χορηγείται fondaparinux.²⁵

Κύηση

Η PNH σύμφωνα με προηγηθείσες μελέτες συνδέεται με ποικιλία επιπλοκών για τη μητέρα και το κύημα, με τη μητρική θνητότητα να ανέρχεται στο 8-12% και την εμβρυϊκή στο 4-7%. Σε πρόσφατη μελέτη διαπιστώθηκε η ασφάλεια χορήγησης του ECU κατά την κύηση καθώς δεν διαπερνά τον πλακούντα.^{51,52}

Νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις

Ο τρόπος δράσης του ECU και οι παρατηρήσεις από τις επιπτώσεις της χορήγησης του, άνοιξαν το δρόμο για την παρέμβαση στον τρόπο δράσης του συμπληρώματος και ήδη γίνονται πολλές ερευνητικές μελέτες.⁵³

Αναστολείς που στοχεύουν στο C5

Τέσσερα νέα μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του C5 αναπτύσσονται σε προκλινικές μελέτες (ALXN1210, ALXN550 σε υποδόρια χορήγηση, LFG316, minibody Mubodina).

Σε εξέλιξη είναι η προκλινική μελέτη ALN-CC5, που στοχεύει στο τελικό C μέσω δράσης παρεμβαλλόμενου RNA (small RNA interference) που καταστέλλει τη γονιδιακή έκφραση του mRNA C5 στο επίπεδο της μετάφρασης προκαλώντας γονιδιακή σίγαση (NCT02352493).

Το Coversin αποτελεί μια μικρή πρωτεΐνη (16kDa) με προέλευση από το τσιμπούρι *Ornithodoros moubata*. Δεσμεύεται στο C5 αποτρέποντας τη διάσπασή του από τη C5 convertase (διαφορετική θέση σύνδεσης). Στη μελέτη NCT02591862 που βρίσκεται σε εξέλιξη χορηγείται το φάρμακο καθημερινά υποδορίως σε ασθενείς με PNH και με αποδεδειγμένη αντίσταση στο ECU λόγω πολυμορφισμών του C5. Επίσης, αναφέρονται μελέτες με μικρές πρωτεΐνες που μιμούνται αντισώματα και δεσμεύουν το C5 (Affibodies SOBI), καθώς και με μακροκυκλικά μοριακά πεπτιδία.⁵³

Αναστολείς που στοχεύουν στο C3

Το Compstatin αποτελεί ένα κυκλικό πεπτιδίο που αναστέλλει την ενεργοποίηση του C μέσω εκλεκτικής αναστολής της διάσπασης και ενεργοποίησης του C3 και του ενεργού θραύσμάτος του C3b και πρόληψη της διαδικασίας οψωνοποίησης και του σχηματισμού

C5b-9 στα PNH ερυθρά. Ανάλογο του Compstatin αποτελεί το Pegylated-Cp40 (μακράς δράσης ανάλογο του compstatin derivative) που έχει αυξημένο χρόνο ημιζωής και δρα ανασταλτικά στην αιμόλυση (Ανάλογα: AMY-101, APL-1, APL-2).^{55,56}

Αναστολείς της εναλλακτικής οδού (CAP)

Το TT30 αποτελεί μια νέα ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη (65KD) που ελέγχει και την ενδοαγγειακή και την εξωαγγειακή αιμόλυση στα PNH ερυθρά. Είναι προϊόν σύζευξης του τμήματος εκείνου του υποδοχέα 2 του συμπληρώματος CR2 που αποτελεί θέση δέσμευσης του θραύσματος iC3b/C3d, και ενός τμήματος του ανασταλτικού τομέα του ρυθμιστικού παράγοντα H (CfH) της εναλλακτικής οδού CAP. Το σύμπλεγμα αυτό δρα «τοπικά» στο σημείο της ενεργοποίησης του συμπληρώματος. Αναστέλλει την CAP, απενεργοποιεί την κομβερτάση C3 και δρα ως συμπαράγοντας του παράγοντα I, προάγοντας έτσι τη μετατροπή του ενεργού C3b σε iC3b (inactive C3b) και στη συνέχεια σε C3dg/C3d. Επομένως προστατεύει από την αρχική ενεργοποίηση του C3 και από την εναπόθεσή του στα PNH ερυθρά. Το TT30 δρα ανεξάρτητα από τον αποκλεισμό του C5 και μπορεί να παρέχει στα PNH ερυθρά μια φυσιολογική επιβίωση ακόμη και επί ενεργοποίησης του συμπληρώματος. Η μελέτη φάσεως 1 NCT01335165 σε ασθενείς με PNH χωρίς άλλη θεραπεία ολοκληρώθηκε, αλλά ο μικρός χρόνος ημιζωής του φαρμάκου, παρεμποδίζει την περαιτέρω κλινική αξιολόγησή του.^{57,58}

Μια παραλλαγή του CFH αποτελούν τα Mini-FH, τα οποία σχεδιάστηκαν ώστε να συνδυάσουν επιτόπους (τον CCP1-4: complement regulatory και τον CCP19-20: surface-targeting domains) του παράγοντα H, με στόχο την αποτροπή εναπόθεσης C3 θραυσμάτων στα PNH ερυθρά και την αναστολή της αιμόλυσης των PNH ερυθρών (Amyndas, AMY-201: small protein 43KDa).⁵⁹

Οι αναστολείς του παράγοντα D είναι οι πρώτοι από του στόματος αναστολείς C, που αναστέλλουν αποτελεσματικά την αιμόλυση των PNH κυττάρων in vitro και περιορίζουν τη συσσώρευση των C3 θραυσμάτων. Ο D μεσολαβεί στο κρίσιμο σημείο της διάσπασης του παράγοντα B ώστε να δημιουργήσει την C3 κομβερτάση της εναλλακτικής οδού.⁶⁰

Το ερευνητικό πεδίο είναι ευρύ αναφορικά με τα φάρμακα αλλά και τα νοσήματα όπου εμπλέκεται η δράση του συμπληρώματος. Αρωγοί στην προσπάθεια μελέτης της PNH αποτελούν και διεθνείς ομάδες, όπως το PNH Education and Study Group (PESG).⁶¹ Η αναγνώριση της PNH και η κατανόηση του μηχανι-

σμού που τη διέπει, αποτελεί εφόδιο για την έγκαιρη διάγνωσή της, αλλά και για την κατανόηση πολλών άλλων νοσημάτων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2014;124:2804-2811.
2. Luzzatto L. Recent advances in the pathogenesis and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *F1000 Res*. 2016;23:1-5.
3. Luzzatto L. PNH from mutations of another PIG gene. *Blood* 2013;122:1099-1100.
4. Tominaga R, Katagiri T, Kataoka K, Kataoka K, Wee RK, Maeda A, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria induced by the occurrence of BCR-ABL in a PIGA mutant hematopoietic progenitor cell. *Leukemia* 2016;30:1208-1210.
5. Fraiman YS, Cuka N, Batista D, Vuica-Ross M, Moliterno AR. Development of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in CALR-positive myeloproliferative neoplasm. *J Blood Med* 2016;7:107-110.
6. Gargiulo L, Papaioannou M, Sica M, Talini G, Chaidos A, Richichi B, et al. Glycosylphosphatidylinositol-specific, CD1d-restricted T cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2013;121:2753-2761.
7. Berentsen S. Role of Complement in Autoimmune Hemolytic Anemia. *Transfus Med Hemother* 2015;42:303-310.
8. Brodsky RA. Complement in hemolytic anemia. *Blood* 2015;126:2459-2465.
9. Risitano AM. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Silverberg DS, editor, *Anemia*. Rijeka, Croatia: InTech 2012;331-374.
10. Weitz I. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: new concepts in pathophysiology and treatment. *Orphan Drugs: Research and Reviews* 2015;575-581.
11. Schrezenmeier H, Muus P, Socié G, Szer J, Urbano-Ispizua A, Maciejewski JP, et al. Baseline characteristics and disease burden in patients in the International Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Registry. *Hematologica*. 2014;99:922-929.
12. Barcellini W, Fattizzo B. Clinical Applications of Hemolytic Markers in the Differential Diagnosis and Management of Hemolytic Anemia. *Dis Markers* 2015; Article ID 635670:1-7.
13. Rother RP, Bell L, Hillmen P, Gladwin MT. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. *JAMA* 2005;293:1653-1662.
14. DeZern AE, Brodsky RA. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: A Complement-Mediated Hemolytic Anemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2015;29:479-494.
15. Μελέτης Γ, Σαραντόπουλος Α, Ασημακόπουλος Ι, Τέρπος Ε. Κλινική εικόνα, διάγνωση και αντιμετώπιση της νυκτερινής παροξυστικής αιμοσφαιρινουρίας. *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής* 2009; 26:454-478.

16. de Azambuja AP, Malvezzi M, Bitencourt MA, Oliveira MM, Medeiros LA, Pasquini R. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone in 103 Brazilian patients: diagnosis and classification. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2015;37:90-97.
17. Visconte V, Lindsley RC, Berlyne D. Aplastic Anemia & MDS International Foundation (AA&MDSIF): Bone Marrow Failure Disease Scientific Symposium 2014. *Leuk Res* 2015;39:110-113.
18. Killick SB, Bown N, Cavenagh J, Dokal I, Foukaneli T, Hill A, et al. British Society for Standards in Haematology. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia. *Br J Haematol* 2016;172:187-207.
19. Ghosh K. Morphological Spectrum of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH). *Indian J Hematol Blood Transfus* 2015;31:314-316.
20. DeZern AE, Symons HJ, Resar LS, Borowitz MJ, Armanios MY, Brodsky RA. Detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones to exclude inherited bone marrow failure syndromes. *Eur J Haematol* 2014;92:467-470.
21. Young NS. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and myelodysplastic syndromes: clonal expansion of PIG-A-mutant hematopoietic cells in bone marrow failure. *Haematologica* 2009;94:3-7.
22. Narita A, Kojima S. Biomarkers for predicting clinical response to immunosuppressive therapy in aplastic anemia. *Int J Hematol* 2016;104:153-158.
23. Narita A, Muramatsu H, Sekiya Y, Okuno Y, Sakaguchi H, Nishio N, et al. Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and telomere length predicts response to immunosuppressive therapy in pediatric aplastic anemia. *Haematologica* 2015;100:1546-1552.
24. Sreedharanunni S, Sachdeva MU, Bose P, Varma N, Bansal D, Trehan A. Frequency of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Clones by Multiparametric Flow Cytometry in Pediatric Aplastic Anemia Patients of Indian Ethnic Origin. *Pediatr Blood Cancer*. 2016;63:93-97.
25. Hill A, Kelly RJ, Hillmen P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2013;121:4985-4996.
26. Ratajczak MZ, Borkowska S, Mierzejewska K, Kucia M, Mendek-Czajkowska E, Suszynska M, et al. Further evidence that paroxysmal nocturnal haemoglobinuria is a disorder of defective cell membrane lipid rafts. *J Cell Mol Med* 2015;19: 2193-2201.
27. Aharon A, Rebibo-Sabbah A, Tzoran I, Levin C. Extracellular vesicles in hematological disorders. *Rambam Maimonides Med J* 2014;5:e0032.
28. Kozuma Y, Sawahata Y, Takei Y, Chiba S, Ninomiya H. Procoagulant properties of microparticles released from red blood cells in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol*. 2011;152:631-639.
29. Foley JH. Examining coagulation-complement crosstalk: complement activation and thrombosis. *Thromb Res* 2016;141 Suppl 2:S50-54.
30. Chapin J, Terry HS, Kleinert D, Laurence J. The role of complement activation in thrombosis and hemolytic anemias. *Transfus Apher Sci* 2016;54:191-198.
31. Scherling-Ocampo AA, Vargas-Ruiz ÁG, López-Karpovitch X. Study of Anticoagulant, Procoagulant, and Fibrinolytic Pathways in Mexican Patients With Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Rev Invest Clin* 2015;67:350-356.
32. Meppiel E, Crassard I, Peffault de Latour R, de Guibert S, Terriou L, Chabriat H, et al. Cerebral venous thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a series of 15 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 2015;94:e362.
33. Devalet B, Mullier F, Chatelain B, Dogné JM, Chatelain C. Pathophysiology, diagnosis, and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a review. *Eur J Haematol* 2015;95:190-198.
34. Parker C, Omine M, Richards S, Nishimura J, Bessler M, Ware R, et al. International PNH Interest Group. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2005;106:3699-3709.
35. Asimakopoulos JV, Terpos E, Papageorgiou L, Kampouroupoulou O, Christoulas D, Giakoumis A, et al. The presence of CD55- and/or CD59-deficient erythrocytic populations in patients with rheumatic diseases reflects an immune-mediated bone-marrow derived phenomenon. *Med Sci Monit* 2014;20:123-139.
36. Meletis J, Terpos E, Samarkos M, Meletis C, Apostolidou E, Komninaka V, et al. Detection of CD55- and/or CD59-deficient red cell populations in patients with lymphoproliferative syndromes. *Hematol J* 2001; 2:33-37.
37. Meletis J, Terpos E, Samarkos M, Meletis C, Apostolidou E, Komninaka V, et al. Detection of CD55- and/or CD59-deficient red cell populations in patients with plasma cell dyscrasias. *Int J Hematol* 2002;75:40-44.
38. Chatziantoniou V, Alexia S, Konstantopoulos K, Repousis P, Megalakaki A, Kotsopoulou M, et al. Significance of the detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients with multiple myeloma undergoing autologous stem cell transplantation. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* 2015;8:150-159.
39. Luzzatto L, Gianfaldoni G, Notaro R. Management of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: a personal view. *Br J Haematol*. 2011;153:709-720.
40. Wong EK, Kavanagh D. Anticomplement C5 therapy with eculizumab for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and atypical hemolytic uremic syndrome. *Transl Res*. 2015;165:306-320.
41. Olutogun T, Cutini I, Notaro R, Luzzatto L. Complement-mediated haemolysis and the role of blood transfusion in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Blood Transfus*. 2015;13:363-369.
42. Lin Z, Schmidt CQ, Koutsogiannaki S, Ricci P, Risitano AM, Lambris JD, et al. Complement C3dg-mediated erythrophagocytosis: implications for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2015;126:891-894.
43. Notaro R, Gargiulo L, De Angioletti M, Rondelli T, Sica M. Recent advances in pathogenesis of paroxysmal

- nocturnal hemoglobinuria. *DCTH* 2015;5: 53-64.
44. Schubert J, Röth A. Update on paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: on the long way to understand the principles of the disease. *Eur J Haematol.* 2015;94:464-473.
 45. Sinan Dal M, Karakuş A, Ekmen M, Orhan Ayyıldız O. Presentation and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a single-center experience. *Hematology Reports* 2016; 8:6409.
 46. Raghupathy R, Derman O. Response of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone with aplastic anemia to rituximab. *Case Rep Hematol* 2012; Article ID 106182: 1-5.
 47. Dal MS, Karakuş A, Ekmen MÖ, Ayyıldız O. Presentation and Management of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: A Single-Center Experience. *Hematol Rep* 2016;8:6409.
 48. Dragoni F, Chiarotti F, Lombardi L, Iori AP, Cafolla A. Anticoagulant therapy with rivaroxaban in a young patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Clin Case Rep* 2015;3:790-792.
 49. Al-Jafar H, AlDallal S, Askar H, Aljeraiwi A, Al-Alansari A. Long Standing Eculizumab Treatment without Anticoagulant Therapy in High-Risk Thrombogenic Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Hematol Rep* 2015;7:5927.
 50. Chawla YK, Bodh V. Portal vein thrombosis. *J Clin Exp Hepatol* 2015; 5:22-40.
 51. Sharma R, Keyzner A, Liu J, Bradley T, Allen SL. Successful pregnancy outcome in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) following escalated eculizumab dosing to control breakthrough hemolysis. *Leuk Res Rep* 2015;4:36-38.
 52. Kelly RJ, Höchsmann B, Szer J, Kulasekararaj A, de Guibert S, Röth A, et al. Eculizumab in Pregnant Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2015;373:1032-1039.
 53. Risitano AM, Marotta S. Therapeutic complement inhibition in complement-mediated hemolytic anemias: Past, present and future. *Semin Immunol* 2016;28:223-240.
 54. Mastellos DC, Yancopoulos D, Kokkinos P, Huber-Lang M, Hajishengallis G, Biglarnia AR, et al. Compstatin: a C3-targeted complement inhibitor reaching its prime for bedside intervention. *Eur J Clin Invest* 2015;45: 423-440.
 55. Risitano AM. Anti-Complement Treatment in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Where we Stand and Where we are Going. *Transl Med UniSa* 2014;8: 43-52.
 56. Mastellos DC, Ricklin D, Yancopoulos D, Risitano A, Lambris JD. Complement in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: exploiting our current knowledge to improve the treatment landscape. *Expert Rev Hematol* 2014;7:583-598.
 57. Fridkis-Hareli M, Storek M, Mazsaroff I, Risitano AM, Lundberg AS, Horvath CJ, et al. Design and development of TT30, a novel C3d-targeted C3/C5 convertase inhibitor for treatment of human complement alternative pathway-mediated diseases. *Blood* 2011;118:4705-4713.
 58. Risitano AM, Notaro R, Pascariello C, Sica M, del Vecchio L, Horvath CJ, et al. The complement receptor 2/factor H fusion protein TT30 protects paroxysmal nocturnal hemoglobinuria erythrocytes from complement-mediated hemolysis and C3 fragment. *Blood* 2012;119:6307-6316.
 59. Schmidt CQ, Harder MJ, Nichols EM, Hebecker M, Anliker M, Höchsmann B, et al. Selectivity of C3-opsonin targeted complement inhibitors: A distinct advantage in the protection of erythrocytes from paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients. *Immunobiology* 2016; 221:503-511.
 60. Gavriilaki E, Thanassi J, Yang G, Yuan X, Huang M, Brodsky RA. Small molecule Factor D Inhibitors Block Complement Activation in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria and Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *Blood* 2015;126:275
 61. Sahin F, Ozkan MC, Mete NG, Yilmaz M, Oruc N, Gurgun A, et al. Multidisciplinary clinical management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Blood Res* 2015;5:1-9.

Στοχεύοντας μοριακές βλάβες

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΥ

Αιματολόγος, Unilabs Lausanne, FMH Hématologie, Lausanne, Switzerland

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η κατάσταση της Οξείας Μυελογενούς Λευχαιμίας (ΟΜΛ) σε γενετικά προγνωστικές υποομάδες χρησιμοποιείται στην επιλογή της θεραπείας (κλασσική χημειοθεραπεία, αλλογενής μεταμόσχευση). Παραδοσιακά αυτή η κατάσταση βασιζόταν στην ανίχνευση χρωμοσωμικών ανωμαλιών με τον καρυότυπο, ωστόσο η ανίχνευση μεταλλάξεων συγκεκριμένων

γονιδίων με πιο ευαίσθητες μεθόδους, παίζει έναν συνεχώς αυξανόμενο ρόλο στην κατάταξη και την πρόγνωση της ΟΜΛ. Η κατάσταση της ELN σε προγνωστικές ομάδες που βασίζεται σε κυτταρογενετικά και μοριακά ευρήματα απεικονίζεται στον πίνακα 1.

Αυτές οι μεταλλάξεις δεν αντικαθιστούν τον καρυότυπο αλλά έχουν έναν συμπληρωματικό ρόλο στον καθορισμό της πρόγνωσης, ειδικά σε συγκεκριμένες υποκατηγορίες ΟΜΛ. Τα τελευταία χρόνια γίνεται προ-

Πίνακας 1. Κατάταξη ΟΜΛ σε προγνωστικές ομάδες.

Προγνωστική κατηγορία	
Καλής πρόγνωσης	t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> Mutated <i>NPM1</i> without <i>FLT3-ITD</i> (normal karyotype) Mutated <i>CEBPA</i> (normal karyotype)
Ενδιάμεσης πρόγνωσης I*	Mutated <i>NPM1</i> and <i>FLT3-ITD</i> (normal karyotype) Wild-type <i>NPM1</i> and <i>FLT3-ITD</i> (normal karyotype) Wild-type <i>NPM1</i> without <i>FLT3-ITD</i> (normal karyotype)
Ενδιάμεσης πρόγνωσης II	t(9;11)(p22;q23); <i>MLL3-MLL</i> Cytogenetic abnormalities not classified as favorable or adverse**
Κακής πρόγνωσης	inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPN1-EVI1</i> t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i> t(v;11)(v;q23); <i>MLL</i> rearranged -5 or del(5q); -7; abnl(17p); complex karyotype***

* Περιλαμβάνει ΟΜΛ με φυσιολογικό καρυότυπο εκτός από αυτές που περιλαμβάνονται στην κατηγορία καλής πρόγνωσης. Οι περισσότερες από αυτές σχετίζονται με κακή πρόγνωση αλλά θα πρέπει να αναφέρονται χωριστά λόγω της πιθανής διαφορετικής ανταπόκρισης στη θεραπεία

** Για τις περισσότερες περιπτώσεις δε μελετήθηκε αρκετός αριθμός ασθενών για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων σχετικά με την πρόγνωση.

*** Τρεις ή περισσότερες χρωμοσωμικές ανωμαλίες με την απουσία μιάς από τη WHO καθορισμένης αναδιάταξης: t(15;17), t(8;21), inv(16) or t(16;16), t(9;11), t(v;11)(v;q23), t(6;9), inv(3) or t(3;3).

σπάθεια να αναπτυχθούν στοχευμένες θεραπείες με βάση το προφίλ γονιδιακών μεταλλάξεων στην ΟΜΛ.

Μοριακές βλάβες και στοχευμένες θεραπείες

Πριν από την εισαγωγή των καινούργιων μεθόδων και τεχνολογιών (κυρίως next generation sequencing) δύο ομάδες μεταλλάξεων είχαν ανακαλυφθεί με τη χρήση κλασσικών κυτταρογενετικών και μοριακών τεχνικών. Οι μεταλλάξεις τύπου I έχουν σαν αποτέλεσμα τη συνεχή ενεργοποίηση ενδοκυττάρων οδών που οδηγούν σε συνεχή πολλαπλασιασμό των αρχέγονων κυττάρων όπως για παράδειγμα οι μεταλλάξεις *FLT3*, *KIT*, *RAS*. Οι μεταλλάξεις τύπου II επηρεάζουν μεταγραφικούς παράγοντες και αναστέλουν τη διαφοροποίηση. Τα τελευταία χρόνια έγινε δυνατή η ανακάλυψη μεγαλύτερου αριθμού μεταλλάξεων και η κατάταξή τους σε περισσότερες ομάδες/classes, ανάλογα με το μηχανισμό δράση τους (Πίνακας 2).²

FLT3

Ο *FLT3* είναι ένας διαμεμβρανικός υποδοχέας κινάσης τυροσίνης με σημαντικό ρόλο στην αιμοποίηση και είναι συχνά μεταλλαγμένος στην ΟΜΛ. Υπάρχουν δύο τύποι μεταλλάξεων α. ένας εσωτερικός σε σειρά διπλασιασμός (*FLT3-ITD*) στην παραμεμβρανική περιοχή στο ενδοκυτταραπλασματικό τμήμα του υποδοχέα και β. μία σημειακή μετάλλαξη στην κινάση τυροσίνης TKD. Και οι δύο μεταλλάξεις οδηγούν σε αυτόνομη συνεχή ενεργοποίηση του υποδοχέα. Περίπου 20% όλων των ΟΜΛ φέρουν τη μετάλλαξη *FLT3-ITD* αλλά είναι πιο συχνή στην οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία (ΟΠΛ) και στην οξεία μυελογενή λευχαιμία με

φυσιολογικό καρυότυπο (σε ποσοστό 30% αυτών των ασθενών). Η ΟΜΛ με φυσιολογικό καρυότυπο και *FLT3-ITD* έχει χειρότερη πρόγνωση (κάτι που δεν ισχύει για την ΟΠΛ) με τη θεραπεία εκλογής να είναι η αλλογενής μεταμόσχευση μετά την πρώτη πλήρη ύφεση αλλά ακόμα και με αυτή τη θεραπευτική προσέγγιση οι υποτροπές είναι συχνές. Η λιγότερο κοινή μετάλλαξη του γονιδίου TKD, βρίσκεται σε περίπου 10% ΟΜΛ και οδηγεί επίσης σε συνεχή ενεργοποίηση του υποδοχέα. Ωστόσο παρά τον παρόμοιο μηχανισμό δράσης των δύο μεταλλάξεων η σημειακή μετάλλαξη δε φαίνεται να επηρεάζει την πρόγνωση.³⁻⁵

Διάφοροι αναστολείς του υποδοχέα *FLT3* έχουν αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια και κάποιοι από αυτούς έχουν δείξει αποτελεσματικότητα σαν μονοθεραπεία αλλά και σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία.

Sorafenib

Είναι ένας 1^{ης} γενιάς αναστολέας πολλών κινασών τυροσίνης, που αναστέλλει ισχυρά τον μεταλλαγμένο υποδοχέα *FLT3-ITD* και έχει κάποια αποτελεσματικότητα σαν μονοθεραπεία σε περιπτώσεις ΟΜΛ με *FLT3-ITD*.⁶ Ο συνδυασμός του με κλασσική ή μικρότερης τοξικότητας χημειοθεραπεία φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματικός και έχει καλύτερα αποτελέσματα σε ασθενείς με *FLT3-ITD*. Σε μία κλινική δοκιμή φάσης 1/2 (μέση ηλικία 53 χρόνια) με το συνδυασμό Sorafenib, Idarubicin, HiDAC, η ολική πλήρης ύφεση ήταν 75%.⁷ Σε ασθενείς με μετάλλαξη *FLT3-ITD* η πλήρης ύφεση ήταν 93% με ολικό χρόνο επιβίωσης στον ένα χρόνο 74%. Η κλινική μελέτη SORAML τυχαιοποίησε 276 ασθενείς ηλικίας 18 μέχρι 60 ετών σε Daunorubicin και Cytarabine (3+7) με ή χωρίς Sorafenib.⁸ Η πλήρης

Πίνακας 2. Κατηγορίες μοριακών βλαβών στην ΟΜΛ

The Cancer Genome Atlas project	% επίπτωση στην ΟΜΛ
Class 1: Transcription factor fusions eg, t(8;21), t(16;16), t(15;17), MLL fusions	18%
Class 2: Nucleophosmin 1, <i>NPM1</i> mutations	27%
Class 3: Tumour suppressor genes eg, <i>TP53</i> , <i>WT1</i> , <i>PHF6</i> mutations	16%
Class 4: DNA-methylation-related genes: DNA hydroxymethylation eg, TET2, IDH1, IDH2 DNA methyltransferases eg, DNMT3A	44%
Class 5: Activated signalling genes eg, <i>FLT3</i> , <i>KIT</i> , <i>RAS</i> mutations	59%
Class 6: Chromatin-modifying genes, eg, ASXL1, EZH2 mutations, MLL fusions, MLL partial tandem duplications	30%
Class 7: Myeloid transcription factor genes eg, <i>CEBPA</i> , <i>RUNX1</i> mutations	22%
Class 8: Cohesin-complex genes eg, STAG2, RAD21, SMC1, SMC2 mutations	13%
Class 9: Spliceosome-complex genes eg, <i>SRSF2</i> , <i>U2AF35</i> , <i>ZRSR2</i> mutations	14%

ύφεση στα δύο σκέλη ήταν ίδια, ωστόσο υπήρχε μία σημαντική παράταση του EFS στον ένα χρόνο στο σκέλος Sorafenib (64% έναντι 50% $P=0.0023$). Αυτό το αποτέλεσμα βρέθηκε στο σύνολο των ασθενών με μία τάση για μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στους ασθενείς με τη μετάλλαξη.⁸ Μία δεύτερη τυχαioποιημένη μελέτη σε πιο ηλικιωμένους ασθενείς ηλικίας 69 έως 80 ετών, χρησιμοποίησε την ίδια προσέγγιση σε 201 ασθενείς.⁹ Σε αντίθεση με την μελέτη στους νεότερους ασθενείς, υπήρχε μία τάση για μικρότερο ποσοστό πλήρους ύφεσης (48% έναντι 60%) με υψηλότερο ποσοστό πρόωρων θανάτων (17% έναντι 7%, $P=0.052$) και καμιά βελτίωση στην EFS και την ολική επιβίωση στο σκέλος Sorafenib.⁹

Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ένα σημαντικό ρόλο για το Sorafenib σε συνδυασμό με κλασσική χημειοθεραπεία στην OMA, σε νέους ασθενείς με *FLT3*-ITD. Ωστόσο αυτός ο συνδυασμός μπορεί να είναι πολύ τοξικός για τους πιο ηλικιωμένους. Για αυτή την τελευταία κατηγορία ασθενών, μια λιγότερη έντονη προσέγγιση χρησιμοποιώντας Sorafenib σε συνδυασμό με 5-azacytidine (5-AZA) έδειξε πολύ καλά αποτελέσματα.⁸ Τριάντα επτά ασθενείς μέσης ηλικίας 64 ετών με ανθεκτική OMA ή OMA σε υποτροπή και με μετάλλαξη *FLT3*-ITD έλαβαν Sorafenib (400mg δύο φορές την ημέρα) σε συνδυασμό με 5-AZA (75 mg/m² IV τις ημέρες 1 έως 5). Το ποσοστό ολικής ανταπόκρισης (ORR) ήταν 46% (16% CR; 27% CRi; 3% PR), με 3% θνητότητα στις 4 και 8 εβδομάδες.¹⁰

Άλλοι συνδυασμοί με Sorafenib συνεχίζονται σε κλινικές μελέτες για να καθορίσουν καλύτερα την αποτελεσματικότητα και την τοξικότητα αυτού του αναστολέα καθώς και τη θέση του στην θεραπεία της οξείας μυελογενούς λευχαιμίας.

Midostaurin

Το Midostaurin είναι ένας 1^{ης} γενιάς από του στόματος αναστολέας έναντι πολλών κινασών (*FLT3*, *c-KIT*, *PDGFRB*, *VEGFR-2*, και *protein kinase C*) με αποτελεσματική αναστολή επίσης του μεταλλαγμένου υποδοχέα *FLT3*. Σε μία κλινική μελέτη φάσης 1b η Midostaurin χρησιμοποιήθηκε σε συνδυασμό με 7+3 σε νεοδιαγνωσμένους ασθενείς με OMA και καθορίστηκε η ασφαλής και αποτελεσματική δόση στα 50 mg ημερησίως.¹¹ Οι ασθενείς με μετάλλαξη *FLT3*-ITD ή TKD είχαν υψηλότερα ποσοστά ολικής ύφεσης (92% έναντι 74%). Αυτό οδήγησε σε μια τυχαioποιημένη κλινική μελέτη φάσης III (RATIFY) με το συνδυασμό 7+3 με ή χωρίς Midostaurin σε ασθενείς με πρωτοδιαγνωσμένη OMA και μετάλλαξη *FLT3*-ITD.¹² Ανάμεσα στους 717 ασθενείς, με

μέση ηλικία 48 έτη, δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στην τοξικότητα ή στην πλήρη ύφεση μεταξύ των δύο σκελών. Ωστόσο η μελέτη έδειξε μία σημαντική βελτίωση στην EFS και την ολική επιβίωση υπέρ του συνδυασμού 7+3 με Midostaurin. Η μέση επιβίωση για το συνδυασμό 7+3 με Midostaurin ήταν 74.7 μήνες έναντι 25.6 μήνες στην ομάδα placebo.¹² Αυτό το όφελος επιβίωσης με την Midostaurin στην *FLT3*-ITD OMA θα μπορούσε να μεταφραστεί σαν το καινούργιο πρότυπο θεραπείας σε αυτή τη μοριακά καθορισμένη ομάδα ασθενών.

Αξίζει να σημειωθεί ότι με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης RATIFY, το FDA όρισε το Midostaurin ως breakthrough therapy, με αποτέλεσμα τη δυνατότητα χρησιμοποίησής του στην καθημερινή κλινική πράξη.

Άλλοι συνδυασμοί με Midostaurin και χημειοθεραπεία χαμηλότερης τοξικότητας είναι σε φάση κλινικών δοκιμών.^{13,14}

Quizartinib

Το Quizartinib είναι ένα ισχυρό 2^{ης} γενιάς αναστολέας κινασών τυροσίνης που σχεδιάστηκε ειδικά σαν αναστολέας του *FLT3*. Σε μία φάσης I κλινική μελέτη, ασθενείς με ανθεκτική ή υποτροπιάζουσα OMA, η μέγιστη ανεκτή δόση (maximum tolerated dose, MTD) καθορίστηκε στα 200 mg την ημέρα (η dose limiting toxicity-DLT- ήταν η βαθμού 3 παράταση του QTc).¹⁵ Ανάμεσα στους ασθενείς με την μετάλλαξη *FLT3*-ITD η ολική ανταπόκριση (ORR) ήταν 53%, σε σύγκριση με 14% για τους ασθενείς χωρίς τη μετάλλαξη. Εξαιτίας της παράτασης του QTc, σε μελέτες φάσης II χρησιμοποιήθηκε ο αναστολέας σε χαμηλότερες δόσεις. Σε μια μελέτη φάσης II σε ασθενείς με ανθεκτική ή υποτροπιάζουσα OMA χρησιμοποιήθηκαν δόσεις 90 mg την ημέρα στις γυναίκες και 135 mg την ημέρα στους άντρες. Στους ασθενείς ηλικίας μεγαλύτερης των 60 ετών η ολική πλήρης ύφεση ήταν 54% στους *FLT3*-ITD θετικούς ασθενείς και 32% στους *FLT3* αρνητικούς αντίστοιχα. Αυτό σχετίστηκε με διάρκεια ύφεσης 12,7 και 22 εβδομάδων αντίστοιχα.¹⁶ Στους νεότερους ασθενείς η πλήρης ύφεση ήταν 44% και 34% στους *FLT3*-ITD θετικούς και αρνητικούς ασθενείς με διάρκεια ύφεσης 11,3 και 25,6 εβδομάδων, αντίστοιχα.¹⁷

Σε μια άλλη τυχαioποιημένη μελέτη φάσης II χρησιμοποιήθηκαν ακόμα χαμηλότερες δόσεις Quizartinib.¹⁸ Εβδομήντα έξι ασθενείς με ανθεκτική ή υποτροπιάζουσα *FLT3*-ITD θετική OMA, τυχαioποιήθηκαν να λάβουν είτε 30 mg ή 60 mg την ημέρα. Το ποσοστό πλήρους ύφεσης ήταν 50% και στα δύο σκέλη, και η διάμεση ολική επιβίωση ήταν 146 και 197 ημέρες,

αντίστοιχα. Το ποσοστό παράτασης του διαστήματος QTc βαθμού 2 ήταν 11% έναντι 17% αντίστοιχα, ενώ το ποσοστό παράτασης βαθμού 3 ήταν μόνο 3% και στα δύο σκέλη. Δεν υπήρξε βαθμού 4 παράταση του QTc.¹⁸

Άλλες μελέτες συνδυασμών με Quizartinib σε υποτροπιάζουσα νόσο αλλά και ως πρώτης γραμμής θεραπεία FLT3-ITD θετικών OML βρίσκονται σε εξέλιξη^{19,20} (NCT01892371).

Άλλοι αναστολείς FLT3

Το Crenolanib είναι ένας 2^{ης} γενιάς ισχυρός αναστολέας που έχει δραστηριότητα έναντι τόσο της μετάλλαξης FLT3-ITD όσο και της μετάλλαξης TKD FLT3-D835. Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα της μονοθεραπείας crenolanib σε 19 ασθενείς με OML και μεταλλάξεις FLT3 δείχνουν μια ORR 50%.²¹

Πρόσφατα ανακοινώθηκαν τα πρώτα αποτελέσματα μιας μελέτης φάσης II κατά την οποία χορηγείται Crenolanib σε συνδυασμό με Cytarabine και Idarubicin ή Daunorubicin σε νεοδιαγνωσμένους ασθενείς με FLT3+ OML. Από τους 14 ασθενείς για τους οποίους υπάρχουν δεδομένα, οι 13 πέτυχαν πλήρη ύφεση (CR 93%) με πλήρη αποκατάσταση της αιμοποίησης, σε κανέναν ασθενή σε πλήρη ύφεση δε βρέθηκε η μετάλλαξη και κανένας δεν είχε υποτροπιάσει τη στιγμή της ανακοίνωσης των πρώτων αυτών αποτελεσμάτων.²²

Ο αναστολέας ASP2215 με διπλή δράση έναντι των FLT3 και AXL και ο αναστολέας FLX925 έναντι των FLT3 και CDK4/6 μελετούνται επίσης σε ανθεκτικές και υποτροπιάζουσες OML.^{23,24}

Σημαντικός φαίνεται να είναι ο ρόλος των αναστολέων FLT3 σαν θεραπεία συντήρησης μετά τη μεταμόσχευση σε ασθενείς με μεταλλάξεις FLT3.²⁵⁻²⁷

Η χορήγηση αναστολέων του υποδοχέα FLT3 συνοδεύονται συχνά από αντίσταση στη θεραπεία και ένας από τους λόγους αυτής της αντίστασης είναι η αντισταθμιστική ενεργοποίηση των οδών STAT3, STAT5, MAPK καθώς η αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης της αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης BCL6. In vitro μελέτες συνδυασμού αναστολέων FLT3 με αναστολείς της STAT3 ή με το ATRA (που προκαλεί μείωση της έκφρασης BCL6 μέσω της αναστολής της οδού ενεργοποίησης του υποδοχέα IL-6) προκαλούν σημαντική αναστολή στον πολλαπλασιασμό FLT3-ITD θετικών κυτταρικών σειρών OML. Αυτό δείχνει ότι υπάρχει η δυνατότητα χρησιμοποίησης στο μέλλον σε κλινικές μελέτες ταυτόχρονα δύο αναστολέων για την αντιμετώπιση της αντίστασης στους αναστολείς FLT3.^{28,29}

IDH1 και IDH2

Τα ένζυμα IDH1 και IDH2 (που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα και στα μιτοχόνδρια αντίστοιχα) καταλύουν τη μετατροπή του ισοκιτρικού σε α-κετογλουταρικό. Μεταλλάξεις του γονιδίου IDH2 βρίσκονται σε 10% έως 15% και του γονιδίου IDH1 σε 5% έως 10% των OML των ενηλίκων αντίστοιχα και πιστεύεται ότι είναι μια από τις αρχικές γενετικές ανωμαλίες στην OML.³⁰⁻³² Η συχνότητα των μεταλλάξεων φαίνεται ότι αυξάνεται με την ηλικία των ασθενών και είναι σχετικά σπάνιες σε ασθενείς με παιδιατρική OML.³³ Οι μεταλλάξεις IDH2 είναι πιο συχνές σε ασθενείς με φυσιολογικό καρυότυπο αλλά το 30% των ασθενών με μεταλλάξεις IDH2 έχουν κυτταρογενετικές ανωμαλίες κατά τη στιγμή της διάγνωσης οι οποίες εμπίπτουν στην κατηγορία του ενδιάμεσου ή υψηλού κυτταρογενετικού κινδύνου. Τα μεταλλαγμένα ένζυμα IDH έχουν διαφορετική ενζυμική δραστηριότητα και καταλύουν τη μετατροπή του α-κετογλουταρικού σε 2-υδροξυγλουταρικό αυξάνοντας τα επίπεδά του, με αποτέλεσμα την υπερμεθυλίωση γονιδίων-στόχων και την αναστολή της μυελικής διαφοροποίησης.³⁴⁻³⁶

Σε κλινικές δοκιμές φάσης I, οι αναστολείς των μεταλλαγμένων IDH1 και IDH2 φαίνεται ότι είναι εξαιρετικά αποτελεσματικοί με ελάχιστη τοξικότητα (NCT02381886, NCT01915498, NCT02074839).

Τα πρώτα αποτελέσματα μιας μελέτης φάσης 1/2 της AG-221 (Agiros / Celgene), του πρώτου αναστολέα IDH2 σε κλινική δοκιμή, έδειξαν ένα συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης 41% σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα/ανθεκτική OML (συνολικός αριθμός ασθενών 73). Είκοσι επτά τοις εκατό των ασθενών είχαν πλήρη μυελική ανταπόκριση όσον αφορά την εξάλειψη των βλαστών από το μυελό, με διάφορα επίπεδα αιματολογικής αποκατάστασης στο περιφερικό αίμα (CR, CRi και μυελός σε μορφολογική ύφεση), και 18% των ασθενών πέτυχαν πραγματική CR. Ένα επιπλέον 14% των ασθενών είχαν μια πραγματική PR με φυσιολογικό αριθμό αιμοπεταλίων και απόλυτο αριθμό ουδετερόφιλων. Εβδομήντα έξι τοις εκατό των ασθενών που ανταποκρίθηκαν ήταν σε θεραπεία για τουλάχιστον 6 μήνες. Είναι ενδιαφέρον ότι το 44% των ασθενών είχαν κλινικά σταθερή νόσο που ορίστηκε ως σταθερό ή μειωμένο ποσοστό βλαστών στο μυελό των οστών αλλά δεν πληρούσαν τα κριτήρια για PR. Μερικοί από αυτούς τους ασθενείς με σταθερή νόσο, έμειναν ελεύθεροι μεταγγίσεων, είχαν φυσιολογικό αριθμό αιμοπεταλίων και απόλυτο αριθμό ουδετερόφιλων, παρά την παραμονή των βλαστών στον μυελό των οστών και το περιφερικό αίμα. Ο αναστολέας ήταν πολύ καλά ανεκτός με πιο συχνές

ανεπιθύμητες ενέργειες ναυτία, πυρετό, διάρροιες και κόπωση. Οι ασθενείς με κλινικά σταθερή νόσο αποτελούν μία σημαντική ομάδα, επειδή αυξάνεται η ολική επιβίωση (που είναι ένας από τους στόχους της θεραπείας της OMA), έστω και αν οι ασθενείς δε βρίσκονται σε πλήρη ύφεση.³⁷

Σε μία κλινική μελέτη φάσης III (IDHENTIFY, NCT 02577406) συγκρίνεται ο αναστολέας AG-221 με συμβατικά σχήματα σε ασθενείς άνω των 60 ετών, με ανθεκτική OMA ή σε υποτροπή μετά από δεύτερη ή τρίτη γραμμή θεραπείας και που είναι θετικοί σε μεταλλάξεις του IDH2.

Αναστολείς των μεταλλαγμένων IDH1 σε στάδιο κλινική εφαρμογής είναι οι AG-120 (Agiros) και IDH305 (Novartis). Τα πρώτα αποτελέσματα για το AG-120 σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα OMA έχουν δείξει αποτελεσματικότητα παρόμοια με αυτή του αναστολέα IDH2, με συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης 31% και πραγματική CR 15%. Ένα επιπλέον 27% των ασθενών είχαν σταθερή νόσο.³⁸

NPM1

Η NPM1 είναι μια πρωτεΐνη που εμπλέκεται στον έλεγχο του σχηματισμού των ριβοσωμάτων και του διπλασιασμού των κεντροσωμάτων. Παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στη σταθεροποίηση των ογκοκατασταλτικών πρωτεϊνών TP53 και CDKN2A (p14ARF), στη ρύθμιση της μεταγραφής και την απόπτωση,³⁹ καθώς και στην επιδιόρθωση του DNA μέσω αλληλεπίδρασης με την πολυμεράση ETA.⁴⁰ Η πρωτεΐνη NPM1, στη δεκαμερή διαμόρφωσή της, μπορεί να δεσμεύσει τις ιστόνες H1, H3, H4, H2A και H2B⁴¹ και συμμετέχει στην αναδιάταξη της χρωματίνης.⁴² Πολλές από αυτές τις λειτουργίες απαιτούν τη συνεχή μετακίνηση της πρωτεΐνης μεταξύ κυτταροπλάσματος και πυρήνα.⁴³ Μεταλλάξεις του γονιδίου NPM1 βρίσκονται στο 20-30% περίπου του συνόλου των OMA και στο 40-50% των OMA με φυσιολογικό καρυότυπο και έχουν σαν αποτέλεσμα την αδυναμία εισόδου της πρωτεΐνης στον πυρήνα και τη συσσώρευση της στο κυτταρόπλασμα. Οι μεταλλάξεις του NPM1 σπάνια συνυπάρχουν με μεταλλάξεις των BCOR ή CEBPA αλλά συχνά συνυπάρχουν με μεταλλάξεις των FLT3, DNMT3A και IDH.⁴⁴⁻⁴⁷ Το πώς οι μεταλλάξεις NPM1 συμβάλλουν στην ανάπτυξη της OMA παραμένει ασαφές αλλά φαίνεται ότι αποτελούν ένα πρώιμο γενετικό συμβάν στις περισσότερες περιπτώσεις. Οι NPM1-μεταλλαγμένες OMA παρουσιάζουν ένα ξεχωριστό επιγενετικό προφίλ⁴⁸ υποδηλώνοντας ότι φάρμακα που δρουν στους επιγενετικούς μηχανισμούς μπορεί να είναι αποτελεσματικά σε NPM1

μεταλλαγμένες OMA.

Έχει για παράδειγμα αναφερθεί θετική επίδραση της αζακυτιδίνης στην MRD σε NPM1 μεταλλαγμένες OMA⁴⁹ καθώς και βελτίωση της EFS σε ασθενείς με θεραπεία συντήρησης με αζακυτιδίνη και λεναλιδομίδη μετά την πλήρη ύφεση.⁵⁰

Προκλινικές μελέτες του τριοξειδίου του αρσενικού (ATO) σε NPM1-μεταλλαγμένες κυτταρικές σειρές OMA δείχνουν ότι το ATO έχει δράση έναντι αυτού του τύπου των OMA.^{51,52}

Επιπλέον, δύο μελέτες από τη γερμανική ομάδα OMA έδειξαν όφελος της προσθήκης ATRA σε OMA, με το όφελος να περιορίζεται μόνο σε NPM1 μεταλλαγμένους ασθενείς.^{53,54} Ποιός ακριβώς θα είναι ο ρόλος της χρησιμοποίησης ATO και ATRA στη θεραπεία των NPM1 θετικών OMA μένει να καθορισθεί.

Core Binding Factor OMA (CBF-AML)

Παρόλο που η έκβαση των ασθενών με CBF-OMA [t(8;21)(q22;q22) ή inv(16)(p13.1q22) ή t(16;16)(p13.1;q22)] βελτιώθηκε κατά πολύ με τη χρήση επαναλαμβανόμενων κύκλων υψηλών δόσεων αρασιτίνης (HiDAC) μετά τη χημειοθεραπεία εφόδου, μόνο στους μισούς ασθενείς επιτυγχάνεται πλήρης ίαση. Η κινάση KIT εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στους ασθενείς με CBF-OMA και είναι μεταλλαγμένη στο ένα τρίτο των ασθενών αυτών. Σε μια κλινική μελέτη φάσης IB/IIA (NCT00850382) εξετάστηκε η δυνατότητα χρησιμοποίησης Dasatinib (ισχυρός αναστολέας της κινάσης KIT) μετά από χημειοθεραπεία εφόδου, μετά από από κάθε κύκλο HiDAC και σαν μονοθεραπεία ως θεραπεία συντήρησης για ένα έτος σε ασθενείς με νεοδιαγνωσμένη CBF-OMA. Δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στην EFS και στην επιβίωση χωρίς υποτροπή μεταξύ των ασθενών με t(8;21) και inv(16), αλλά η ολική επιβίωση ήταν καλύτερη στους ασθενείς με inv(16) (OS στα 3 χρόνια: 80.5% έναντι 63.4%).⁵⁵ Μία μελέτη φάσης III έχει ξεκινήσει προκειμένου να επιβεβαιώσει τα ενθαρρυντικά αυτά αποτελέσματα (AMLSG 21-13; NCT02013648).

Plk-1 (polo like kinase 1)

Η Plk-1 ανήκει στην οικογένεια των κινασών σερίνης/θρεονίνης και παίζει σημαντικό ρόλο στην ωρίμανση του κεντροσώματος, το σχηματισμό της ατράκτου και την κυτοκίνηση κατά τη διάρκεια τη μίτωσης. Η Plk-1 εκφράζεται έντονα σε κυτταρικές σειρές λευχαιμίας και σε λευχαιμικά κύτταρα ασθενών με OMA σε σχέση με τα φυσιολογικά κύτταρα του μυελού των οστών από υγιείς δότες. Αναστολή της

Plk-1 χρησιμοποιώντας siRNA σε λευχαιμικά κύτταρα έδειξε ότι σταματά τον πολλαπλασιασμό τους.⁵⁶

Το Volasertib είναι ένας αναστολέας της κινάσης κυτταρικού κύκλου PLK1 καθώς και των κινάσων PLK2 και PLK3, ακόμα και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις και οδηγεί σε διακοπή του κυτταρικού κύκλου στην αρχή της προμετάφασης λόγω μειωμένου σχηματισμού της ατράκτου με αποτέλεσμα την απόπτωση.⁵⁷

Μια φάσης I κλινική μελέτη του Volasertib σε συνδυασμό με χαμηλή δόση araC (LDAC) έδειξε κλινική αποτελεσματικότητα.⁵⁸ Αυτό οδήγησε σε μια τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης II με τη χρήση LDAC με ή χωρίς Volasertib σε ασθενείς που κρίνονται ακατάλληλοι για κλασσική θεραπεία εφόδου. Ογδόντα επτά ασθενείς με διάμεση ηλικία τα 75 έτη τυχαιοποιήθηκαν σε LDAC ή LDAC και Volasertib. Το ποσοστό ανταπόκρισης (CR/CRi) ήταν υψηλότερο για το σκέλος του συνδυασμού (30% έναντι 13,3%, $p=0,052$) με μια σημαντική βελτίωση της EFS (5,6 έναντι 2,3 μηνών, $P=0,021$) και της OS (8 έναντι 5,2 μηνών, $p=0,047$).⁵⁸ Ενώ υπήρξε αυξημένη συχνότητα ανεπιθύμητων ενεργειών στο σκέλος του συνδυασμού (μυελοκαταστολή, λοιμώξεις, γαστρεντερικές διαταραχές), δεν υπήρχε διαφορά στη θνητότητα στις 30 (9,5% έναντι 8,9%, αντίστοιχα) ή 60 ημέρες (21,4% έναντι 17,8%, αντίστοιχα) στα δύο σκέλη.

Μια πολυκεντρική κλινική μελέτη φάσης III εξέτασε την αποτελεσματικότητα LDAC με ή χωρίς Volasertib σε νεοδιαγνωσμένους ασθενείς με OML που δεν είναι υποψήφιοι για χημειοθεραπεία εφόδου (NCT01721876). Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δεν επιβεβαίωσαν τα αποτελέσματα της φάσης II. Οι ασθενείς που έλαβαν Volasertib+LDAC είχαν υψηλότερο κίνδυνο θανατηφόρων λοιμώξεων σε σύγκριση με το συνδυασμό Placebo+LDAC και συνολικά χαμηλότερη OS.⁵⁹

Κλινικές μελέτες συνδυασμού Volasertib με κλασσική χημειοθεραπεία εφόδου (NCT02198482) ή Decitabine (NCT02003573) είναι σε εξέλιξη.

Συμπεράσματα

Τα τελευταία χρόνια υπήρξε καλύτερη κατανόηση της παθογένειας της OML, με την ανακάλυψη νέων μοριακών βλαβών και των συνδυασμών τους καθώς και του ρόλου τους στην ανθεκτικότητα και την υποτροπή της νόσου. Γίνεται προσπάθεια αυτές οι μοριακές βλάβες να χρησιμοποιηθούν ως θεραπευτικοί στόχοι προκειμένου να βελτιωθεί η έκβαση των ασθενών. Ωστόσο υπάρχουν αρκετά προβλήματα στην κλινική εφαρμογή των στοχευμένων θεραπειών, όπως

για παράδειγμα αρκετά εγγενή προβλήματα στην εφαρμογή των προκλινικών μελετών στην κλινική πράξη, η ύπαρξη πολλαπλών γενετικών βλαβών και κατά συνέπεια πολλαπλών τροποποιημένων μοριακών οδών με αποτέλεσμα η δοκιμή μιας στοχευμένης θεραπείας μεμονωμένα να είναι δυνητικά προβληματική και στην πραγματικότητα να υποτιμά την αποτελεσματικότητά της. Φαίνεται πιο λογικό ότι ο συνδυασμός στοχευμένων θεραπειών με ή χωρίς κλασσική χημειοθεραπεία θα αποτελέσει στο άμεσο μέλλον τη θεραπεία εκλογής σε ασθενείς με OML, με την προϋπόθεση ότι η επιλογή των διαφορετικών συνδυασμών θα εφαρμόζεται σε συγκεκριμένες ομάδες ασθενών γενετικά/μοριακά καθορισμένων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Döhner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European Leukemia Net. *Blood*. 2010;115:453-474.
2. Meyer SC, Levine RL. Translational implications of somatic genomics in acute myeloid leukaemia. *Lancet Oncol*. 2014;15:382-394.
3. Ofran Y, Rowe JM. Genetic profiling in acute myeloid leukaemia—Where are we and what is its role in patient management. *Br J Haematol*. 2013;160:303-320.
4. Martelli MP, Sportoletti P, Tiacci E, Martelli MF, Falini B. Mutational landscape of AML with normal cytogenetics: Biological and clinical implications. *Blood Rev*. 2013;27:13-22.
5. Whitman SP, Archer KJ, Feng L, Baldus C, Becknell B, Carlson BD, et al. Absence of the wild-type allele predicts poor prognosis in adult de novo acute myeloid leukemia with normal cytogenetics and the internal tandem duplication of FLT3: A cancer and leukemia group B study. *Cancer Res*. 2001;61:7233-7239.
6. Zhang W, Konopleva M, Shi YX, McQueen T, Harris D, Ling X, et al. Mutant FLT3: a direct target of sorafenib in acute myelogenous leukemia. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100:184-198.
7. Ravandi F, Cortes JE, Jones D, Faderl S, Garcia-Manero G, Konopleva MY, et al. Phase I/II study of combination therapy with sorafenib, idarubicin, and cytarabine in younger patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2010;28:1856-1862.
8. Röllig C, Müller-Tidow C, Hüttmann A, Noppeney R, Kunzmann V, Baldus CD, et al. Sorafenib versus placebo in addition to standard therapy in younger patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia: Results from 267 patients treated in the randomized placebo-controlled SAL-soramf trial. *Blood*. 2014;124:6.
9. Serve H, Krug U, Wagner R, Sauerland MC, Heinecke A, Brunnberg U, et al. Sorafenib in combination with

- intensive chemotherapy in elderly patients with acute myeloid leukemia: results from a randomized, placebo-controlled trial. *J Clin Oncol.* 2013;31:3110-3118.
10. Ravandi F, Alattar ML, Grunwald MR, Rudek MA, Rajkhowa T, Richie MA, et al. Phase 2 study of azacytidine plus sorafenib in patients with acute myeloid leukemia and FLT-3 internal tandem duplication mutation. *Blood.* 2013;121:4655-4662.
 11. Stone RM, Fischer T, Paquette R, Schiller G, Schiffer CA, Ehninger G, et al. Phase IB study of the FLT3 kinase inhibitor midostaurin with chemotherapy in younger newly diagnosed adult patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia.* 2012;26:2061-2068.
 12. Stone RM, Mandrekar S, Sanford BL, Geyer S, Bloomfield CD, Dohner K, et al. The Multi-Kinase Inhibitor Midostaurin (M) Prolongs Survival Compared with Placebo (P) in Combination with Daunorubicin (D)/Cytarabine (C) Induction (ind), High-Dose C Consolidation (consol), and As Maintenance (maint) Therapy in Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia. *Blood.* 2015;126:6.
 13. Cooper BW, Kindwall-Keller TL, Craig MD, Creger RJ, Hamadani M, Tse WW, Lazarus HM. A phase I study of midostaurin and azacitidine in relapsed and elderly AML patients. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2015;15:428-432, e422.
 14. Strati P, Kantarjian H, Ravandi F, Nazha A, Borthakur G, Daver N, et al. Phase I/II trial of the combination of midostaurin (PKC412) and 5-azacytidine for patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Am J Hematol.* 2015;90:276-281.
 15. Levis M. Quizartinib for the treatment of FLT3/ITD acute myeloid leukemia. *Future Oncol.* 2014;10:1571-1579.
 16. Cortes JE, Perl AE, Dombret H, Döhner H, Steffen B, Rousselot P, et al. Final Results of a Phase 2 Open-Label, Monotherapy Efficacy and Safety Study of Quizartinib (AC220) in Patients \geq 60 Years of Age with FLT3 ITD Positive or Negative Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia. *ASH Annual Meeting Abstracts.* 2012;120:48-48.
 17. Levis MJ, Perl AE, Dombret H, Kayser S, Steffen B, Rousselot P, et al. Final results of a phase 2 open-label, monotherapy efficacy and safety study of quizartinib (AC220) in patients with FLT3-ITD positive or negative relapsed/refractory acute myeloid leukemia after second-line chemotherapy or hematopoietic stem cell transplantation. *ASH Annual Meeting Abstracts.* 2012;120:673
 18. Cortes J, Tallman MS, Schiller G, Gammon G, Goldberg S, Perl AE, et al. Results of a phase 2 randomized, open-label, study of lower doses of quizartinib (AC220; ASP2689) In subjects with FLT3-ITD positive relapsed or refractory acute myeloid leukemia (AML). *Blood.* 2013;122:494.
 19. Altman J, Foran JM, Pratz KW, Trone D, Gammon G, Cortes J, et al. Results of a phase 1 study of quizartinib (AC220, ASP2689) In combination with induction and consolidation chemotherapy in younger patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia. *Blood.* 2013;122:623.
 20. Borthakur G, Kantarjian HM, O'Brien S, Garcia-Manero G, Jabbour E, Daver N, et al. The Combination of Quizartinib with Azacitidine or Low Dose Cytarabine Is Highly Active in Patients (Pts) with FLT3-ITD Mutated Myeloid Leukemias: Interim Report of a Phase I/II Trial. *Blood.* 2014;124:388.
 21. Collins R, Kantarjian HM, Levis MJ, Perl AE, Ramachandran A, Ravandi F, et al. Clinical activity of Crenolanib in patients with D835 mutant FLT3-positive relapsed/refractory acute myeloid leukemia (AML). *ASCO Meeting Abstracts.* 2014;32(15_suppl):7027.
 22. Wang E, Stone R, Tallman M, Thompson J, Ontiveros E, Olson G, et al. Safety study of Crenolanib, a type I FLT3 Inhibitor, with Cytarabine/Daunorubicin or Cytarabine/Daunorubicin Induction and high-dose Cytarabine Consolidation in newly diagnosed FLT3+ AML. Meghan Macaraeg et al. *EHA 2016 Abstract: P186.*
 23. Daver NG, Konopleva M, Kohrt HE, Scott Fridman J, Johnson D, Jaen JC, et al. First-in-human study of FLX925, an orally administered FLT3/CDK4/CDK6 inhibitor, in subjects with relapsed or refractory acute myeloid leukemia (AML). *ASCO Meeting Abstracts.* 2015;33(15 suppl):TPS7098.
 24. Levis MJ, Perl AE, Altman JK, Cortes JE, Ritchie EK, Larson RA, et al. Results of a first-in-human, phase I/II trial of ASP2215, a selective, potent inhibitor of FLT3/Axl in patients with relapsed or refractory (R/R) acute myeloid leukemia (AML). *ASCO Meeting Abstracts.* 2015;33(15 suppl):7003.
 25. Antar A, Kharfan-Dabaja MA, Mahfouz R, Bazarbachi A. Sorafenib Maintenance Appears Safe and Improves Clinical Outcomes in FLT3-ITD Acute Myeloid Leukemia After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2015;15:298-302.
 26. Chen YB, Li S, Lane AA, Connolly C, Del Rio C, Valles B, et al. Phase I trial of maintenance sorafenib after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for fms-like tyrosine kinase 3 internal tandem duplication acute myeloid leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20:2042-2048.
 27. Schlenk R, Döhner K, Salih H, Köndgen A, Fiedler W, Salwender HJ, et al. Midostaurin in Combination with Intensive Induction and As Single Agent Maintenance Therapy after Consolidation Therapy with Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation or High-Dose Cytarabine (NCT01477606). *Blood.* 2015;126:322.
 28. De Kouchkovsky, Abdul-Hay M. Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update. *Blood Cancer Journal* 2016;6:e441; doi:10.1038/bcj.2016.50
 29. Ma HS, Greenblatt SM, Shirley CM, Duffield AS, Bruner JK, Li L, Nguyen B, et al. All-trans retinoic acid synergizes with FLT3 inhibition to eliminate FLT3/ITD leukemia stem cells in vitro and in vivo. *Blood.* 2016;127.
 30. Green CL, Evans CM, Zhao L, Hills RK, Burnett AK,

- Linch DC, et al. The prognostic significance of IDH2 mutations in AML depends on the location of the mutation. *Blood*. 2011;118:409-412.
31. Paschka P, Schlenk RF, Gaidzik VI, Habdank M, Krönke J, Bullinger et al. IDH1 and IDH2 mutations are frequent genetic alterations in acute myeloid leukemia and confer adverse prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with NPM1 mutation without FLT3 internal tandem duplication. *J Clin Oncol*. 2010;28:3636-3643.
 32. Marcucci G, Maharry K, Wu YZ, Radmacher MD, Mrózek K, Margeson D, et al. IDH1 and IDH2 gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol*. 2010;28:2348-2355.
 33. Andersson AK, Miller DW, Lynch JA, Lemoff AS, Cai Z, Pounds SB, et al. IDH1 and IDH2 mutations in pediatric acute leukemia. *Leukemia*. 2011;25:1570-1577.
 34. Ward PS, Patel J, Wise DR, Bennett BD, Collier HA, Cross JR, et al. The common feature of leukemia-associated IDH1 and IDH2 mutations is a neomorphic enzyme activity converting alpha-ketoglutarate to 2-hydroxyglutarate. *Cancer Cell*. 2010;17:225-234.
 35. Figueroa ME, Abdel-Wahab O, Lu C, Ward PS, Patel J, Shih A, et al. Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer Cell*. 2010;18:553-567.
 36. Lu C, Ward PS, Kapoor GS, Rohle D, Turcan S, Abdel-Wahab O, et al. IDH mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation. *Nature*. 2012;483:474-478.
 37. DiNardo C, Stein EM, Altman JK, DeAngel DJ, Fathi AT, Flinn I, et al. AG-221, an oral, selective, first-in-class, potent inhibitor of the IDH2 mutant enzyme, induced durable responses in a phase 1 study of IDH2 mutation positive advanced hematologic malignancies. EHA Annual Meeting Abstracts 2015. Abstract P569
 38. De Botton S, Pollyea DA, Stein EM, Di Nardo C, Fathi AT, Roboz JG, et al. Clinical safety and activity of AG-120, a first-in-class, potent inhibitor of the IDH1 mutant protein, in a phase 1 study of patients with advanced IDH1-mutant hematologic malignancies. EHA Annual Meeting Abstracts 2015; Abstract P563.
 39. Grisendi S, Mecucci C, Falini B, Pandolfi PP. Nucleophosmin and cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2006;6:493-505.
 40. Ziv O, Zeisel A, Mirlas-Neisberg N, Swain U, Nevo R, Ben-Chetrit N, et al. Identification of novel DNA-damage tolerance genes reveals regulation of translesion DNA synthesis by nucleophosmin. *Nature Communications*, 2014;5:5437.
 41. Okuwaki, M. The structure and functions of NPM1/ Nucleophosmin/B23, a multifunctional nucleolar acidic protein. *Journal of Biochemistry*. 2008;143:441-448.
 42. Swaminathan V, Kishore AH, Febitha KK, Kundu TK. Human histone chaperone nucleophosmin enhances acetylation-dependent chromatin transcription. *Molecular and Cellular Biology*. 2005;25:7534-7545.
 43. Falini B, Bolli N, Liso A, Martelli MP, Mannucci R, Pileri S, et al. Altered nucleophosmin transport in acute myeloid leukaemia with mutated NPM1: molecular basis and clinical implications. *Leukemia*. 2009;23:1731-1743.
 44. Lowenberg B, Pabst T, Vellenga E, van Putten W, Schouten HC, Graux C, et al. Cytarabine dose for acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2011;364:1027-1036.
 45. Fernandez HF, Sun Z, Yao X, Litzow MR, Luger SM, Paietta EM, et al. Anthracycline dose intensification in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2009;361:1249-1259.
 46. Lowenberg B, Ossenkoppele GJ, van Putten W, Schouten HC, Graux C, Ferrant A, et al. High-dose daunorubicin in older patients with acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2009;361:1235-1248.
 47. Falini B, Martelli MP, Bolli N, Bonasso R, Ghia E, Pallotta MT, et al. Immunohistochemistry predicts nucleophosmin (NPM) mutations in acute myeloid leukemia. *Blood*, 2006;108:1999-2005.
 48. Figueroa ME, Lugthart S, Li Y, Eipelinck-Verschueren C, Deng X, Christos PJ, et al. DNA methylation signatures identify biologically distinct subtypes in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell*. 2010;17:13-27.
 49. Sockel K, Wermke M, Radke J, Kiani A, Schaich M, Bornhauser M, et al. Minimal residual disease-directed preemptive treatment with azacitidine in patients with NPM1-mutant acute myeloid leukemia and molecular relapse. *Haematologica*. 2011;96:1568-1570.
 50. Wei A, Tan P, Perruzza S, Govindaraj C, Fleming S, McManus J. Maintenance lenalidomide in combination with 5-azacytidine as post remission therapy for acute myeloid leukemia. *BJH*. 2015;169:199-210.
 51. El Hajj H, Dassouki Z, Berthier C, Raffoux E, Ades L, Legrand O, et al. Retinoic acid and arsenic trioxide trigger degradation of mutated NPM1, resulting in apoptosis of AML cells. *Blood*. 2015;125:3447-3454
 52. Martelli MP, Gionfriddo I, Mezzasoma F, Milano F, Pierangeli S, Mulas F, et al. Arsenic trioxide and all-trans retinoic acid target NPM1 mutant oncoprotein levels and induce apoptosis in NPM1-mutated AML cells. *Blood*. 2015;125:3455-3465.
 53. Schlenk RF, Döhner K, Kneba M, Götze K, Hartmann F, Del Valle F, et al. Gene mutations and response to treatment with all-trans retinoic acid in elderly patients with acute myeloid leukemia. Results from the AMLSG trial AML HD98B. *Haematologica*. 2009;94:54-60.
 54. Schlenk RF, Döhner K, Krauter J, Gaidzik VI, Paschka P, Heuser M, et al. All-trans retinoic acid improves outcome in younger patients with nucleophosmin-1 mutated acute myeloid leukemia. Results of the AMLSG 07-04 randomized treatment trial. *Blood*. 2011;118. Abstract 80.
 55. Paschka P, Schlenk RF, Weber D, Fiedler W, Lübbert M, Theobald M, et al. Dasatinib in combination with chemotherapy and as maintenance in core-binding

- factor (CBF) acute myeloid leukemia (AML): a phase IB/IIA study of the German-Austrian AML Study Group (AMLSG). Matthias Theobald, Hartmut Döhner, et al. EHA 2016 Abstract: S515
56. Ikezoe T, Yang J, Nishioka C, Takezaki Y, Tasaka T, Togitani K, et al. A novel treatment strategy targeting polo-like kinase 1 in hematological malignancies. *Leukemia*. 2009;23:1564-1576.
57. Gjertsen BT, Schoffski P. Discovery and development of the Polo-like kinase inhibitor volasertib in cancer therapy. *Leukemia*. 2015;29:11-9.
58. Bug G, Schlenk RF, Muller-Tidow C, Labbert M, Kramer A, Fleischer F, et al. Phase I/II Study of BI 6727 (volasertib), An Intravenous Polo-Like Kinase-1 (Plk1) Inhibitor, In Patients with Acute Myeloid Leukemia (AML): Results of the Dose Finding for BI 6727 In Combination with Low-Dose Cytarabine. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2011;116:3316.
59. Döhner H, Symeonidis A, Sanz MA, Deeren D, Demeter J, Anagnostopoulos A, et al. Phase III randomised trial of Volasertib plus low-dose Cytarabine (LDAC) versus placebo plus LDAC in patients aged >65 years with previously untreated AML, ineligible for intensive therapy. EHA 2016 Abstract S501.

Ο ρόλος της MRD στο θεραπευτικό σχεδιασμό της ΟΜΛ

ΙΦΙΓΕΝΕΙΑ Α. ΤΖΑΝΝΟΥ, ΜΑΡΙΑ Ν. ΠΑΓΩΝΗ
Αιματολογική Κλινική - Μ.Μ.Μ.Ο., Γ.Ν. "Ο Ευαγγελισμός", Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία (ΟΜΛ) είναι μια εξαιρετικά ετερογενής νόσος. Σύμφωνα με την ταξινόμηση της WHO 2008, αλλά και της πρόσφατης WHO 2016 οι ασθενείς κατηγοριοποιούνται σε χαμηλού, ενδιάμεσου και υψηλού κινδύνου, με βάση κυτταρογενετικά και μοριακά χαρακτηριστικά του νοσήματος.¹ Παρά την ακριβέστερη ταξινόμηση τις τελευταίες δεκαετίες, ο θεραπευτικός σχεδιασμός στην ΟΜΛ, παραμένει αμετάβλητος και περιλαμβάνει θεραπεία εφόδου με τον κλασικό συνδυασμό της κυτταραβίνης με ανθρακυκλίνη, το γνωστό σχήμα «3+7», και στη συνέχεια θεραπεία σταθεροποίησης με υψηλές δόσεις κυτταραβίνης και/ή αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων (αλλο-ΜΑΚ). Παρόλα αυτά η πρόγνωση της νόσου παραμένει δυσμενής και η 5-ετής επιβίωση ακόμα και στους νέους ασθενείς δεν ξεπερνά το 50%.² Στη δεκαετία του 1950 η πλήρης ύφεση ορίστηκε, με βάση την κυτταρομορφολογία, ως η παρουσία βλαστών <5% στο επίχρισμα μυελού με οπτικό μικροσκόπιο. Όμως τα τελευταία 20 και πλέον χρόνια, η ανάπτυξη νέων εργαστηριακών τεχνικών με ευαισθησία μεγαλύτερη από την κυτταρομορφολογία και την ανοσοϊστοχημεία, επέτρεψε την ανίχνευση λευχαιμικού φορτίου στο μυελό ασθενών με πλήρη μορφολογική ύφεση (ελάχιστη υπολειμματική νόσος - Minimal Residual Disease - MRD). Η σημασία της MRD ως προγνωστικού παράγοντα για υποτροπή, ανεξάρτητα από τα κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά της νόσου κατά τη διάγνωση, έχει διαπιστωθεί και συνεχώς ενισχύεται, αναμένεται δε σύντομα να παίξει σημαντικό ρόλο στο σχεδιασμό της θεραπείας μετά την ύφεση.^{3,4}

Παρακολούθηση ελάχιστης υπολειμματικής νόσου στην ΟΜΛ

Τα λευχαιμικά κύτταρα μπορούν να αναγνωριστούν μεταξύ των φυσιολογικών αιμοποιητικών κυττάρων με βάση ανοσοφαινοτυπικές και χρωμοσωμικές διαταραχές, μεταλλάξεις ή υπερέκφραση γονιδίων. Η κυτταρομετρία ροής και η ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) αποτελούν τις περισσότερο χρησιμοποιούμενες μεθόδους για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της MRD, με ευαισθησία που ανέρχεται στο 10^{-5} - 10^{-6} .

Κυτταρομετρία ροής

Η κυτταρομετρία ροής αποτελεί σημαντικό εργαλείο για τη διάκριση των λευχαιμικών κυττάρων από τα φυσιολογικά αιμοποιητικά κύτταρα στο μυελό των οστών. Στην πολυχρωματική κυτταρομετρία ροής (Multicolor Flow Cytometry - MFC) χρησιμοποιούνται αντισώματα το καθένα από τα οποία έχει σημανθεί με διαφορετική φθορίζουσα ουσία. Τα αντισώματα συνδέονται με τα αντίστοιχα αντιγόνα/δείκτες του κυττάρου με αποτέλεσμα να είναι δυνατή η ταυτόχρονη ανίχνευση πολλών αντιγόνων/δεικτών ανά κύτταρο.⁵ Βασική προϋπόθεση για την εκτίμηση της MRD με την κυτταρομετρία ροής είναι η αναζήτηση έκτοπων συνδυασμών αντιγονικών δεικτών στα βλαστικά κύτταρα κατά τη διάγνωση της ΟΜΛ (Leukemia Associated ImmunoPhenotypes - LAIPs). Οι LAIPs διακρίνονται σε 4 κατηγορίες: 1. δείκτες που φυσιολογικά εκφράζονται σε άλλες κυτταρικές σειρές (T-, B- λεμφοκύτταρα ή NK-κύτταρα)- αποκλίνουσα έκφραση αντιγόνων (aberrant expression), 2. υπερέκφραση φυσιολογικών

δεικτών της μυελικής σειράς, 3. απουσία/υποέκφραση φυσιολογικών δεικτών και 4. ασύγχρονη έκφραση δεικτών ωρίμανσης (Πίνακας 1).⁶ Η ταυτοποίηση LAIPs για κάθε ασθενή είναι πολύπλοκη διαδικασία, αλλά με τη χρησιμοποίηση εκτεταμένου πάνελ αντιγόνων επιφανείας, τελικά καθίσταται δυνατός ο προσδιορισμός LAIPs για την παρακολούθηση της MRD στο 90% περίπου των ασθενών με ΟΜΛ, με ευαισθησία 10^{-3} - 10^{-4} .^{7,8} Παρόλα αυτά, η χρησιμοποίηση LAIPs για την εκτίμηση της MRD έχει περιορισμούς. Συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί μεταβολή στους LAIPs κατά την πορεία της νόσου (antigenic shift - αντιγονική διαφοροποίηση) σε ποσοστό που ανέρχεται στο 91% των ασθενών, με αποτέλεσμα να αυξάνεται έτσι η συχνότητα ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.⁹⁻¹¹ Αντιγονική διαφοροποίηση παρατηρείται καθ' όλη την πορεία του νοσήματος, σε μικρότερο βαθμό μετά τη θεραπεία εφόδου και ολοένα αυξανόμενη σε μεταγενέστερα στάδια.

Επίσης οι δείκτες που χρησιμεύουν ως LAIPs, όπως CD2, CD7, CD15, CD56, είναι δυνατόν να ανιχνεύονται σε χαμηλά ποσοστά και στο φυσιολογικό μυελό, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η πιθανότητα λάθους προς την κατεύθυνση του ψευδώς θετικού.¹² Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων της MFC είναι εξαιρετικά απαιτητική, εξαρτάται από την επιλογή του πάνελ αντισωμάτων και στηρίζεται σε μεγάλο βαθμό στην εμπειρία του εκάστοτε χειριστή, με αποτέλεσμα να υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση των αποτελεσμάτων ανάλογα με το εργαστήριο και το χειριστή. Σήμερα στην κλινική πράξη για την ανίχνευση της MRD χρησιμοποιούνται 6-10 διαφορετικά χρώματα για τη σήμανση των αντισωμάτων, γεγονός που έχει περιορίσει τις αποκλίσεις αυτές.^{4,13} Επιπλέον, και η ποσοτικοποίηση της MRD γίνεται με διαφορετικό τρόπο ανά εργαστήριο. Συνήθως η MRD υπολογίζεται ως ποσοστό είτε επί των εμπύρηνων κυττάρων είτε επί των CD45+ κυττάρων ή επί των μονοπύρηνων κυττάρων. Όμως και τα ποσοστά που ορίζουν τη θετικότητα της MRD σε καθεμιά από αυτές τις περιπτώσεις διαφέρουν μεταξύ των εργαστηρίων.^{3,4} Είναι λοιπόν προφανές ότι η εναρμόνιση των εργαστηρίων

κυτταρομετρίας, σε διεθνές επίπεδο, με ενιαία πρωτόκολλα και κεντρικά εργαστήρια αναφοράς είναι απαραίτητη. Οι προσπάθειες προς την κατεύθυνση αυτή έχουν ήδη ξεκινήσει.¹⁴

Προγνωστική Σημασία

Η προγνωστική σημασία της MFC-MRD μετά από τη θεραπεία εφόδου έχει μελετηθεί διεξοδικά σε ενήλικες και παιδιά με ΟΜΛ. Οι San Miguel και συν, σε μια προοπτική μελέτη 126 ασθενών με ΟΜΛ, κατέληξαν ότι η παρουσία βλαστικών κυττάρων στο μυελό σε ποσοστό >0.1% μετά τη θεραπεία εφόδου αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για υποτροπή. Έτσι, με βάση το φορτίο της υπολειμματικής νόσου η ομάδα PETHEMA κατέταξε τους ασθενείς σε 4 ομάδες κινδύνου. Η συχνότητα υποτροπής στα 3 έτη για την ομάδα υψηλού κινδύνου (MRD >1%) ήταν 86%, για τους ασθενείς με MRD 0.1-1% βρέθηκε 45% έναντι 14% σε εκείνους με MRD 0.01-0.1% ($p < 0.001$). Αξίζει να σημειωθεί ότι ασθενείς χωρίς ανιχνεύσιμη MRD δεν υποτροπίασαν.¹⁵ Αντίστοιχα αποτελέσματα προέκυψαν από τις μελέτες και άλλων ομάδων, παρά το γεγονός ότι το όριο θετικότητας MRD διέφερε μεταξύ των μελετών.^{11,16-19}

Το 2010 η Ιταλική ομάδα GIMEMA μελέτησε την προγνωστική αξία του συνδυασμού των κυτταρογενετικών χαρακτηριστικών κατά τη διάγνωση και της MRD μετά από τη θεραπεία σταθεροποίησης, σε 143 ενήλικες ασθενείς με ΟΜΛ. Διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς χαμηλού και ενδιάμεσου κυτταρογενετικού κινδύνου με μη ανιχνεύσιμη MRD είχαν επιβίωση χωρίς νόσο 70% και 63% στα 4 έτη και συνολική επιβίωση 84% και 67% αντίστοιχα. Όμως για τους ασθενείς χαμηλού και ενδιάμεσου κυτταρογενετικού κινδύνου με θετική MRD η 4-ετής επιβίωση χωρίς νόσο βρέθηκε 15% και 17% και η συνολική επιβίωση 38% και 23%, αντίστοιχα ($p < 0.001$). Σύμφωνα με τους συγγραφείς οι ομάδες κινδύνου μετά τη θεραπεία σταθεροποίησης αναδιαμορφώνονται έτσι ώστε η ομάδα χαμηλού κινδύνου να περιλαμβάνει τους ασθενείς χαμηλού και ενδιάμεσου κυτταρογενετικού

Πίνακας 1. Συχνότερα χρησιμοποιούμενοι ανοσοφαινοτυπικοί δείκτες για τον καθορισμό LAIPs

Τύπος ανοσοφαινότυπου σχετιζόμενου με ΟΜΛ	Ανοσοφαινοτυπικοί δείκτες
Δείκτες άλλης κυτταρικής σειράς	CD2, CD4, CD5, CD7, CD10, CD19, CD56
Ασύγχρονη έκφραση ωρίμανσης δεικτών μυελικής σειράς	CD13/CD33, CD38/CD33, CD11b/CD34, CD15/CD34
Υπερέκφραση φυσιολογικών δεικτών	CD34
Απουσία ή μειωμένη έκφραση φυσιολογικών δεικτών	HLA-DR

κινδύνου με μη ανιχνεύσιμη MRD (με επιβίωση χωρίς νόσο 58% στα 4 έτη και συνολική επιβίωση 73%) και η ομάδα υψηλού κινδύνου τους ασθενείς υψηλού κυτταρογενετικού κινδύνου και τους ασθενείς χαμηλού και ενδιάμεσου κυτταρογενετικού κινδύνου με θετική MRD μετά τη θεραπεία σταθεροποίησης (με επιβίωση χωρίς νόσο 22% στα 4 έτη και συνολική επιβίωση 17%) ($p < 0.001$).²⁰

Εφαρμογές στον θεραπευτικό σχεδιασμό

Το φορτίο MFC-MRD αποτελεί μεν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για την υποτροπή και τη συνολική επιβίωση στην OMA, δεν έχει όμως ενσωματωθεί ουσιαστικά στον θεραπευτικό σχεδιασμό. Προς το παρόν οι θεραπευτικές αποφάσεις λαμβάνονται με βάση την ταξινόμηση των ασθενών, σύμφωνα με τα κυτταρογενετικά και μοριακά χαρακτηριστικά του νοσήματος κατά τη διάγνωση. Υπάρχουν όμως κάποιες μελέτες που υποστηρίζουν την ένταξη της MFC-MRD στο θεραπευτικό σχεδιασμό.

Στη μεγάλη πολυκεντρική μελέτη AML02 οι Rubnitz και συν εξέτασαν την προγνωστική αξία της MRD σε σχέση με τα κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά του νοσήματος κατά τη διάγνωση και αναλόγως των αποτελεσμάτων της MRD τροποποίησαν τη θεραπευτική προσέγγιση. Μελετήθηκαν 232 παιδιατρικοί ασθενείς με OMA, που διακρίθηκαν σε χαμηλού ενδιάμεσου και υψηλού κινδύνου βάσει των κυτταρογενετικών χαρακτηριστικών κατά τη διάγνωση. Την ημέρα 22 μετά τη θεραπεία εφόδου, εκτιμήθηκε η MFC-MRD και οι ασθενείς με MRD >1% έλαβαν άμεσα το δεύτερο κύκλο θεραπείας εφόδου με ή χωρίς την προσθήκη gemtuzumab ozogamicin. Επιπλέον, οι ασθενείς αυτοί εντάχθηκαν στην ομάδα υψηλού κινδύνου ανεξάρτητα από τα κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά κατά τη διάγνωση. Ως θεραπεία σταθεροποίησης οι ασθενείς σταθερού και υψηλού κινδύνου με διαθέσιμο δότη υποβλήθηκαν σε αλλο-MAK. Η MRD >1% ήταν και σε αυτή τη μελέτη ανεξάρτητος αρνητικός παράγοντας τόσο για την επιβίωση χωρίς υποτροπή όσο και για τη συνολική επιβίωση. Όμως συνολικά σε όλους τους ασθενείς τα ποσοστά πλήρους ύφεσης ήταν 94% μετά το δεύτερο κύκλο θεραπείας εφόδου και η επιβίωση χωρίς νόσο και η συνολική επιβίωση 63% και 71% αντίστοιχα στην 3-ετία. Οι συγγραφείς, μετά από σύγκριση με ιστορικά δεδομένα, καταλήγουν ότι η στρατηγική εντατικοποίησης της θεραπείας λαμβάνοντας υπ' όψιν την MRD μετά τη θεραπεία εφόδου βελτίωσε την έκβαση των ασθενών.²¹

Πρόσφατα η ομάδα PETHEMA εξέτασε το ίδιο ερώτημα σε 306 ενήλικες ασθενείς με OMA. Διαπι-

τώθηκε ότι οι ασθενείς ενδιάμεσου κινδύνου με βάση τα κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά διακρίνονται σε 3 ομάδες, όταν ληφθεί υπ' όψιν το φορτίο της MRD μετά την έφοδο, με 5-ετή επιβίωση 38%, 50% και 70% για τους ασθενείς με MRD $\geq 0.1\%$, 0.01-0.1% και $< 0.01\%$ αντίστοιχα. Στην περίπτωση των ασθενών χαμηλού κινδύνου, σύμφωνα με τα κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά, η εκτίμηση του φορτίου MRD οδήγησε επίσης στη δημιουργία 3 ομάδων με διαφορετική πρόγνωση, όμως τα αποτελέσματα δεν ήταν στατιστικά σημαντικά. Τέλος, οι ασθενείς κακής πρόγνωσης είχαν εξίσου δυσμενή έκβαση ανεξάρτητα από την MRD μετά τη θεραπεία εφόδου. Επιπλέον, αναλύθηκε η έκβαση των 86 ασθενών ενδιάμεσου κυτταρογενετικού κινδύνου με MRD $\geq 0.1\%$ ανάλογα με τη θεραπεία που έλαβαν μετά την έφοδο. Όσοι έλαβαν χημειοθεραπεία ή υποβλήθηκαν σε αυτόλογη μεταμόσχευση είχαν επιβίωση χωρίς νόσο 35% και 30% αντίστοιχα, ενώ για τους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αλλο-MAK η επιβίωση χωρίς νόσο ήταν σαφώς βελτιωμένη και έφθανε στο 66% ($p=0.06$).²² Φαίνεται ότι η εντατικοποίηση της θεραπείας σε αυτή την ομάδα ασθενών, ίσως έχει ευεργετικά αποτελέσματα. Για την εξαγωγή ασφαλέστερων συμπερασμάτων αναμένονται τα αποτελέσματα τυχαιοποιημένων μελετών, όπως αυτή της Ιταλικής ομάδας GIMEMA (NCT01452646), οι οποίες εντάσσουν την MFC-MRD στον θεραπευτικό σχεδιασμό και τη λήψη απόφασης για εντατικοποίηση της θεραπείας.

Ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης

Η ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (quantitative Real-Time polymerase chain reaction - RT-qPCR) αποτελεί εξελιγμένη μορφή της PCR που συνδυάζει τη δυνατότητα σύνθεσης φθορίζουσας χρωστικής στο προϊόν της αντίδρασης. Με τη μέθοδο αυτή είναι δυνατή η ποσοτική μέτρηση της έκφρασης του mRNA ενός συγκεκριμένου γονιδίου σε σχέση με ένα γονίδιο αναφοράς, με ευαισθησία που φτάνει το 10^{-4} - 10^{-5} .²³⁻²⁶ Στην OMA η RT-qPCR αυτή μπορεί να εφαρμοστεί σε περιπτώσεις γονιδιακών αναδιατάξεων, μεταλλάξεων ή υπερέκφρασης γονιδίων (Πίνακας 2). Μοριακές διαταραχές που μπορούν να χρησιμεύσουν στην παρακολούθηση της MRD ανευρίσκονται στο 60% περίπου των ασθενών με OMA.

Στα πλαίσια του προγράμματος «Η Ευρώπη Κατά του Καρκίνου» (Europe Against Cancer - EAC) οργανώθηκε και τελικά πραγματοποιήθηκε η εναρμόνιση ειδικών εργαστηρίων για κλινική εφαρμογή της RT-qPCR. Κατά τη διαδικασία της εναρμόνισης, αξιολογήθηκε το δίκτυο των συμμετεχόντων εργαστη-

Πίνακας 2. Μοριακοί δείκτες στην ΟΜΛ.

Μέθοδος Ανίχνευσης	Μοριακοί δείκτες
Ανίχνευση υβριδικών μεταγράφων	<i>RUNX1/RUNX1T1, CBFb-MYH11, υβριδικά γονίδια MLL</i>
Μεταλλάξεις γονιδίων	<i>NPM1, FLT3, DNMT3A, CEBPA, IDH1/2</i>
Υπερέκφραση γονιδίων	<i>WT1, BAALC, ERG</i>

ρίων, σχεδιάστηκαν εκκινήτες για κάθε γονίδιο στόχο, δημιουργήθηκαν κοινά πρωτόκολλα και καθορίστηκε ως γονίδιο αναφοράς το ABL, το οποίο εκφράζεται σταθερά στο φυσιολογικό μυελό των οστών και στο περιφερικό αίμα.²³ Επίσης, το Ευρωπαϊκό Δίκτυο Λευχαιμίας (European Leukemia Net - ELN) έχει αναπτύξει λογισμικό για την επεξεργασία των δεδομένων από διάφορες πλατφόρμες RT-qPCR ώστε τα αποτελέσματα να παρουσιάζονται τελικά με ενιαίο τρόπο.²⁴

Γονιδιακές αναδιατάξεις

Οι περισσότεροι μελετημένες γονιδιακές αναδιατάξεις στη ΟΜΛ είναι αυτές που σχετίζονται με τις cord binding factor - CBF λευχαιμίες. Οι ασθενείς που φέρουν τις μεταλλάξεις t(8;21)(q22;q22) ή t(16;16)(p13.1;q22), που οδηγούν αντίστοιχα στα χιμαιρικά γονίδια *RUNX1-RUNX1T1* και *CBFb-MYH11* κατατάσσονται στην ομάδα χαμηλού κινδύνου και έχουν γενικά καλή πρόγνωση. Όμως μελέτες από διάφορα κέντρα έδειξαν ότι η έκβαση του νοσήματος διαφοροποιείται ανάλογα με την MRD μετά τη θεραπεία εφόδου ή σταθεροποίησης και είναι βέλτιστη όταν επιτυγχάνεται μοριακή ύφεση ή μεγάλη μείωση των μεταγράφων που ανιχνεύονται μετά τη θεραπεία. Στη Βρετανική μελέτη AML-15 συμμετείχαν 278 ασθενείς ηλικίας 15-70 ετών με CBF λευχαιμία. Για τους ασθενείς με αναδιάταξη t(8;21), φάνηκε ότι η μείωση των *RUNX1-RUNX1T1* μεταγράφων κατά τουλάχιστον 3log στο μυελό μετά τη θεραπεία εφόδου αποτελεί σημαντικό προγνωστικό παράγοντα, έτσι ώστε η αθροιστική επίπτωση υποτροπής στα 5 έτη ήταν μόνο 4% έναντι 32% στους ασθενείς που δεν πέτυχαν μείωση του ίδιου επιπέδου. Επίσης μελετήθηκε η σημασία του ύψους του φορτίου της νόσου και διαπιστώθηκε ότι αριθμός μεταγράφων <100 στο μυελό και <1000 στο περιφερικό αίμα, μπορούσε να διακρίνει τους ασθενείς υψηλού κινδύνου για υποτροπή. Αντίστοιχα, για τους ασθενείς με t(16;16), ο απόλυτος αριθμός μεταγράφων *CBFb-MYH11* <10 στο περιφερικό αίμα, μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας εφόδου σχετίστηκε με καλύτερη πρόγνωση στα 5 έτη. Στους ασθενείς αυτούς η αθροιστική επίπτωση υποτροπής ήταν 29%, ενώ στους ασθενείς με απόλυτο αριθμό μεταγράφων >10

αλλά <500 ήταν 56%.²⁵ Ανάλογα ευρήματα προέκυψαν και από τη μελέτη των Jourdan και συν. Πάντως, από τις προαναφερθείσες μελέτες φάνηκε ότι η MRD στις CBF λευχαιμίες είναι περισσότερο αξιόπιστη, ως προγνωστικός δείκτης μετά το δεύτερο κύκλο σταθεροποίησης, παρά μετά τη θεραπεία εφόδου ή την πρώτη σταθεροποίηση.²⁶

Με βάση αυτά τα δεδομένα οι Zhu και συν σε μια προοπτική μελέτη, προσπάθησαν να εντάξουν την ανίχνευση MRD μετά τη δεύτερη σταθεροποίηση στον περαιτέρω θεραπευτικό σχεδιασμό. Εκατόν δέκα εξ ασθενείς με t(8;21) διακρίθηκαν σε υψηλού ή χαμηλού κινδύνου ανάλογα με την επίτευξη ή μη μείωσης των μεταγράφων κατά 3log. Οι ασθενείς υψηλού κινδύνου με διαθέσιμο δότη, υποβλήθηκαν σε αλλο-ΜΑΚ, ενώ οι υπόλοιποι συνέχισαν με χημειοθεραπεία. Οι ασθενείς υψηλού κινδύνου που υποβλήθηκαν σε αλλο-ΜΑΚ είχαν καλύτερη επιβίωση χωρίς υποτροπή (61,7%) (p=0.001) και συνολική επιβίωση (72%) (p=0.0069) σε σχέση με εκείνους που συνέχισαν με χημειοθεραπεία (19,6% και 27% αντίστοιχα). Αντίθετα οι ασθενείς χαμηλού κινδύνου δεν ωφελήθηκαν καθόλου από την αλλο-ΜΑΚ, καθώς σε αυτή την ομάδα η συνολική επιβίωση ήταν 100% για τους εκείνους που έλαβαν μόνο χημειοθεραπεία με ή χωρίς αυτόλογη μεταμόσχευση, έναντι 76% για τους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αλλο-ΜΑΚ (p=0.013).²⁷

Λιγότερα είναι τα δεδομένα για τις αναδιατάξεις του γονιδίου *MLL 9* (11q23) λόγω και της ελαττωμένης συχνότητας ανίχνευσης αυτής της μετάλλαξης (2-12%).^{28,29} Το 2005 δημοσιεύτηκαν τα πρώτα σχετικά αποτελέσματα από τη Γερμανική ομάδα μελέτης ΟΜΛ για 19 ασθενείς με αναδιάταξη t(9;11)(p22;q23) *MLL-MLLT3*. Οι ασθενείς διακρίθηκαν σε 2 ομάδες ανάλογα με την ύπαρξη μιας τουλάχιστον θετικής RQ-qPCR ενώ βρίσκονταν σε μορφολογική ύφεση. Οι ασθενείς με αρνητική MRD καθ' όλη τη διάρκεια της παρακολούθησης είχαν στατιστικά σημαντικά μικρότερη αθροιστική επίπτωση υποτροπής και καλύτερη συνολική επιβίωση, έναντι των ασθενών που είχαν ανιχνεύσιμη MRD σε οποιοδήποτε χρονικό σημείο της παρακολούθησης.³⁰ Σε σύγχρονη μελέτη από τους Weissner και συν διαπιστώθηκε ότι η μείωση του αριθμού των *MLL/PTD* μεταγραφών κατά 2log

τουλάχιστον, 2 μήνες μετά την έναρξη θεραπείας εφόδου, συσχετιζόταν με στατιστικά σημαντικά ελαττωμένη πιθανότητα υποτροπής. Η μοριακή υποτροπή ήταν ανιχνεύσιμη 30 ημέρες πριν την εκδήλωση της αιματολογικής σε όλους τους ασθενείς.³¹ Το γεγονός όμως ότι μικρός αριθμός μεταγράφων ανευρίσκεται στο μυελό ή στο περιφερικό αίμα και υγιών ατόμων, αποτελεί πρόβλημα για την εκτίμηση των αποτελεσμάτων της RT-qPCR. Το 2013 οι Abildgaard και συν χρησιμοποίησαν την RT-qPCR σε συνδυασμό με μια νέα τεχνική «locked nucleic acid probe» για πιο ακριβή εκτίμηση των μεταγράφων. Με τη μέθοδο αυτή παρακολούθησαν 8 ασθενείς με MLL λευχαιμία και κατέληξαν σε συμπεράσματα ανάλογα των προηγούμενων μελετών.³² Σε επόμενη μελέτη, η ίδια ομάδα συνέκρινε την κινητική της υποτροπής σε ασθενείς με MLL-PTD ή MLL αναδιατάξεις και παρατήρησε ότι η υποτροπή στην πρώτη περίπτωση ήταν σημαντικά βραδύτερη. Επιπλέον, οι συγγραφείς αναφέρουν ότι ο τύπος της OMA και η παρουσία επιπρόσθετων μεταλλάξεων επηρέασαν την ταχύτητα υποτροπής. Όμως λόγω της εξαιρετικά γρήγορης υποτροπής σε όλες τις ομάδες ασθενών, δεν ήταν δυνατή η πρόβλεψη της αιματολογικής υποτροπής με βάση την MRD.³³

Σημειακές μεταλλάξεις

I. Μεταλλάξεις του γονιδίου *NPM1*: Οι μεταλλάξεις αλλαγής πλαισίου στο γονίδιο της νουκλεοφωσμίνης 1 είναι ιδιαίτερα συχνές και απαντώνται στο 1/3 των ασθενών με OMA (50% των ασθενών με φυσιολογικό καρυότυπο).^{34,35} Παρότι έχουν αναγνωριστεί τουλάχιστον 50 διαφορετικές μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτό, >90% των περιπτώσεων ταυτοποιούνται με τους διαθέσιμους για PCR εκκινητές.³⁶ Λόγω του ιδιαίτερα αυξημένου αριθμού μεταγράφων της μετάλλαξης κατά τη διάγνωση, αλλά και της σταθερότητάς της κατά την πορεία του νοσήματος η ευαισθησία της RT-qPCR στην ανίχνευση της *NPM1* είναι μεγάλη και φτάνει το 10^{-5} , με αποτέλεσμα η μετάλλαξη αυτή να αποτελεί χρήσιμο και αξιόπιστο δείκτη παρακολούθησης της MRD.⁴ Σε μια μεγάλη πολυκεντρική μελέτη από τους Kronker και συν, στην οποία συμμετείχαν 245 ασθενείς, αναγνωρίστηκε η προγνωστική αξία της *NPM1* ως δείκτη MRD στην OMA. Η αρνητική RT-qPCR μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας εφόδου συσχετίστηκε με στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη αθροιστική επίπτωση υποτροπής στα 4 έτη (6.5%), ενώ αντίθετα στην ομάδα των ασθενών με θετική MRD στο μυελό ή στο περιφερικό αίμα η αθροιστική επίπτωση υποτροπής έφτανε το 53% στα 4 έτη ($p < 0.001$). Ανάλογα ήταν και τα ευρήματα σχετικά με τη συνολική επιβίωση, ήτοι

90% έναντι 51% για τις δύο ομάδες ασθενών αντίστοιχα ($p = 0.001$), ενώ στην πολυπαραγοντική ανάλυση τα επίπεδα μεταγράφων του γονιδίου αναγνωρίστηκαν ως σημαντικός παράγοντας κινδύνου για υποτροπή.³⁴ Πρόσφατα δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα από την παρακολούθηση της MRD σε ασθενείς με μεταλλάξεις του γονιδίου *NPM1*, στα πλαίσια της μεγάλης πολυκεντρικής μελέτης NCRI-AML17. Στο 15% των ασθενών ανιχνεύονταν μετάγραφο *NPM1* στο περιφερικό αίμα μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας εφόδου. Οι ασθενείς αυτοί είχαν αυξημένο κίνδυνο υποτροπής στα 3 έτη παρακολούθησης, 82% έναντι 30% για τους ασθενείς χωρίς ανιχνεύσιμη MRD, ενώ η συνολική επιβίωση βρέθηκε 24% και 75% αντίστοιχα ($p = 0.001$). Μοναδικός ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για θάνατο ήταν η ανιχνεύσιμη MRD.³⁷

II. Εσωτερικός αναδιπλασιασμός του γονιδίου *FLT3* (*FLT3-ITD*): Πρόκειται για μετάλλαξη που απαντάται σε 25% των ασθενών με φυσιολογικό καρυότυπο. Η δυσμενής προγνωστική αξία της μετάλλαξης αυτής κατά τη διάγνωση είναι σαφώς τεκμηριωμένη. Ωστόσο η μετάλλαξη *FLT3-ITD* παρουσιάζει έντονη ετερογένεια όσον αφορά στο μέγεθος, στον αριθμό των μεταλλαγμένων κλώνων ανά ασθενή, και στο σημείο εισαγωγής των αλληλίων, ενώ είναι ιδιαίτερα ασταθής κατά την πορεία του νοσήματος.³⁸⁻⁴¹ Για το λόγο αυτό η εν λόγω μετάλλαξη δεν έχει καθιερωθεί ως δείκτης παρακολούθησης της MRD.

III. Μεταλλάξεις του γονιδίου *DNMT3A*: Ανιχνεύονται σε 15-25% των ασθενών με OMA, κυρίως όταν ο καρυότυπος είναι φυσιολογικός.⁴² Η σταθερότητα της μετάλλαξης μελετήθηκε αναλυτικά από τους Hou και συν σε 316 δείγματα από 138 ασθενείς, εκ των οποίων 35 έφεραν τη μετάλλαξη κατά τη διάγνωση. Από τους ασθενείς με *DNMT3* μετάλλαξη στη διάγνωση, όλοι όσοι υποτροπίασαν είχαν την ίδια μετάλλαξη και στην υποτροπή. Αντίθετα οι *DNMT3* αρνητικοί κατά τη διάγνωση, παρέμειναν αρνητικοί και στην υποτροπή.⁴³ Παρόμοια στοιχεία για ασθενείς που υποτροπίασαν προέκυψαν και από άλλη μελέτη. Όμως η συνεχιζόμενη ανίχνευση *DNMT3* σε ασθενείς που πέτυχαν μορφολογική ύφεση δεν φάνηκε να έχει καμία προγνωστική αξία. Στην ομάδα αυτή των ασθενών η μετάλλαξη ανιχνευόταν έως και 8 έτη μετά την αρχική διάγνωση και δεν διαπιστώθηκε καμία συσχέτιση με την κινητική της υποτροπής.^{44,45} Στην περίπτωση ανίχνευσης *DNMT3A* και με δεδομένη τη διαθεσιμότητα των νέων επιγενετικών παραγόντων, ίσως θα είχε νόημα η παρακολούθηση μόνο των ασθενών που αρνητικοποιούν τη μετάλλαξη κατά την ύφεση, με στόχο την έγκαιρη θεραπευτική παρέμβαση.

Υπερέκφραση γονιδίων

Μεταλλάξεις γονιδίου Wilms Tumor - *WT1*: Το γονίδιο *WT1* αποτελεί ιδιαίτερα ελκυστικό δείκτη για την παρακολούθηση της ΟΜΛ, καθώς υπερεκφράζεται σε 80% των ασθενών με ΟΜΛ.⁴⁶ Λόγω της έκφρασης του γονιδίου και σε υγιείς, το όριο θετικότητας για MRD, ορίστηκε από το ELN σε 50 και 250 μετάγραφα *WT1/10⁴ ABL* στο περιφερικό αίμα και το μυελό αντίστοιχα. Στη συνέχεια μελετήθηκαν προοπτικά 129 ασθενείς που έλαβαν 3+7 και οι οποίοι κατά τη διάγνωση είχαν $\geq 2 \times 10^4$ μετάγραφα *WT1/10⁴ ABL*. Ασθενείς που πέτυχαν μεγαλύτερη μείωση των μεταγράφων μετά τη θεραπεία εφόδου είχαν χαμηλότερο κίνδυνο για υποτροπή [hazard ratio (HR) 0.54], ανεξάρτητα από το είδος της θεραπείας σταθεροποίησης. Μάλιστα το μέγεθος της μείωσης των μεταγράφων *WT1* ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για υποτροπή έτσι ώστε επίπεδα *WT1* κάτω από τα όρια θετικότητας μετά τη θεραπεία σταθεροποίησης ήταν προγνωστικά χαμηλού κινδύνου υποτροπής ($p=0.004$).⁴⁷ Σε ανάλογα αποτελέσματα κατέληξαν και άλλες μικρότερες μελέτες.^{48,49} Παρόλα αυτά η σχετικά χαμηλή ευαισθησία και η έλλειψη ειδικότητας του γονιδίου, καθιστούν δύσκολη την υιοθέτηση της παρακολούθησης MRD με βάση την έκφραση του γονιδίου *WT1* στην κλινική πράξη.

Νεότερες μοριακές μέθοδοι - Αλληλούχιση νέας γενιάς (Next generation sequencing - NGS)

Η μέθοδος αυτή επιτρέπει την ταυτόχρονη μελέτη μεγάλου αριθμού αλληλίων σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα και καθιστά δυνατή την ανίχνευση και παρακολούθηση μεγάλου αριθμού πολυμορφισμών. Η εφαρμογή της NSG οδήγησε στην ανακάλυψη νέων μεταλλάξεων, μεταξύ των οποίων και οι *DNMT3A*, *IDH1*, *IDH2*, *TET2*. Η νέα και εξαιρετικά ευαίσθητη αυτή μέθοδος χρησιμοποιείται ήδη στα πλαίσια του διαγνωστικού ελέγχου της ΟΜΛ, για την ταυτόχρονη ανίχνευση διαφορετικών μεταλλάξεων στους λευχαιμικούς κλώνους, ακόμα και σε ασθενείς χωρίς ανιχνεύσιμες κυτταρογενετικές ανωμαλίες με καρβοτυπική ανάλυση και PCR.⁵¹ Η NSG έχει αρχίσει ήδη να χρησιμοποιείται και για την παρακολούθηση της MRD. Η πρώτη σχετική μελέτη δημοσιεύθηκε από τους Kico και συν. Πρόκειται για αναδρομική μελέτη, στην οποία δείγματα από 50 ασθενείς κατά τη διάγνωση και κατά την πρώτη μορφολογική ύφεση αναλύθηκαν με NSG. Στο 48% των δειγμάτων κατά την ύφεση, μεταλλάξεις που σχετίζονται με ΟΜΛ ήταν ακόμα ανιχνεύσιμες σε τουλάχιστον 5% των μυελικών

κυττάρων. Στους ασθενείς με θετική MRD, η επιβίωση χωρίς νόσο ήταν 8,8 μήνες ενώ για τους ασθενείς χωρίς ανιχνεύσιμες μεταλλάξεις 25,6 μήνες ($p=0.03$). Αντίστοιχα η συνολική επιβίωση βρέθηκε 19,3 και 46,8 μήνες στις δύο ομάδες ($p=0.02$).⁵² Απαιτούνται ωστόσο περισσότερες μελέτες προκειμένου να επιβεβαιωθούν αυτά τα αποτελέσματα.

Η χρησιμότητα της MRD στην κλινική πράξη

Η MRD μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο εργαλείο για το καλύτερο θεραπευτικό σχεδιασμό για τους ασθενείς με ΟΜΛ. Ωστόσο ακόμα υπάρχουν αρκετά ζητήματα προς επίλυση, όπως ποια είναι η προτιμητέα μέθοδος παρακολούθησης MRD, πώς ορίζεται η θετικότητα, ποιος είναι ο ιδανικός δείκτης παρακολούθησης της ΟΜΛ και τελικά πώς μπορεί να εντάσσεται η MRD στο θεραπευτικό σχεδιασμό.

Όσον αφορά στην προτιμητέα μέθοδο για την παρακολούθηση της MRD, υπάρχουν λίγα στοιχεία από τη μελέτη των Inaba και συν. Αναλύθηκαν 203 δείγματα ασθενών με νέα διάγνωση ΟΜΛ και αξιολογήθηκαν συγκριτικά τα αποτελέσματα της κυτταρομορφολογίας, της MFC και της PCR. Τα αποτελέσματα ήταν ιδιαίτερα ενδιαφέροντα, καθώς μόνο 8,2% των δειγμάτων με >5% βλαστικά κύτταρα στη μικροσκόπηση ήταν MFC-MRD θετικά ($\geq 0.1\%$). Το 99% των αρνητικών δειγμάτων με PCR ήταν αρνητικά και με την κυτταρομετρία, όμως μόνο 9,6% των θετικών με PCR ήταν θετικά και με την MFC. Πάντως μετά από τη θεραπεία εφόδου μόνο η MFC-MRD ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την έκβαση των ασθενών.¹⁹ Στον πίνακα 3 φαίνονται τα χαρακτηριστικά των διαθέσιμων μεθόδων παρακολούθησης MRD.

Με βάση τις προαναφερθείσες μελέτες, η προγνωστική αξία της MRD είναι πλέον αναμφισβήτητη και μπορεί να διακρίνει τους ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής. Η ανίχνευση MRD υποδηλώνει ότι ο ασθενής πιθανότατα δεν θα ανταποκριθεί στη χορηγούμενη θεραπεία και επομένως θα ήταν σκόπιμη η χορήγηση άλλης θεραπείας, εφόσον βέβαια αυτή είναι διαθέσιμη. Νόσο μοντέλο αποτέλεσε η οξεία προμυελόκυτταρική λευχαιμία, δεδομένου ότι ήταν το πρώτο νόσημα στο οποίο επιβεβαιώθηκε η προγνωστική αξία της MRD με την ανίχνευση του *PML-RARA* και την εφαρμογή πρώιμης θεραπείας για την αντιμετώπιση της μοριακής υποτροπής. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα να αλλάξει δραματικά η έκβαση των ασθενών με ΟΠΛ, με την αντιμετώπιση της υποτροπής σε μοριακό επίπεδο. Με μια ανάλογη στρατηγική, η MRD έχει ενσωματωθεί επιτυχώς στο θεραπευτικό σχεδιασμό της οξείας λεμφοβλαστικής και της χρόνιας

Πίνακας 3. Χαρακτηριστικά των τριών συχνότερα χρησιμοποιούμενων μεθόδων για την παρακολούθηση MRD

	Κυτταρομετρία ροής (MCF)	Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (RT-qPCR)	Αλληλούχιση νέας γενιάς (NGS)
Διαθέσιμα ενιαία αντιδραστήρια	Ναι	Όχι - Εξατομικευμένη εξέταση	Ναι
Ευσαιθησία	1/10000	1/100000	1/1000000
Ποσοστό ασθενών	>90%	Έως 60% αναλόγως των μοριακών χαρακτηριστικών	Δεν έχει τεκμηριωθεί 100%
Χρόνος εξέτασης	1-3 ημέρες	1-3 ημέρες	1-2 εβδομάδες
Κλινική εξέλιξη νοσήματος	Μη μετρήσιμη	Αδύνατη ανίχνευση	Ανιχνεύσιμη

μυελογενούς λευχαιμίας.⁵³⁻⁵⁵ Στην περίπτωση της ΟΜΛ, προς το παρόν τουλάχιστον, τη μοναδική εναλλακτική θεραπευτική προσέγγιση αποτελεί η αλλο-ΜΑΚ, η οποία όμως συνδέεται με αυξημένη τοξικότητα και θνητότητα σχετιζόμενη με τη θεραπεία. Με βάση τις προαναφερθείσες μελέτες, οι ασθενείς χαμηλού ή ενδιάμεσου κυτταρογενετικού κινδύνου, με θετική MRD μετά τη θεραπεία εφόδου θα μπορούσαν πράγματι να ωφεληθούν από εντατικοποίηση της θεραπείας. Τα στοιχεία είναι πιο ισχυρά για τους ασθενείς με CBF λευχαιμίες. Αναμένονται με μεγάλο ενδιαφέρον τα αποτελέσματα τυχαιοποιημένων μελετών, όπως η UK MRC AML18 (ISRCTN31682779), στις οποίες οι ασθενείς τυχαιοποιούνται προκειμένου να λάβουν δύο διαφορετικά είδη εντατικοποίησης με βάση την ανίχνευση MRD, προκειμένου να εξαχθούν ασφαλέστερα συμπεράσματα.

Τέλος, τα τελευταία χρόνια νέοι θεραπευτικοί παράγοντες με μοριακούς στόχους και νέες ανοσολογικές θεραπείες για την ΟΜΛ βρίσκονται υπό μελέτη και πιθανώς στο μέλλον να αποτελέσουν εναλλακτικές θεραπείες για τους ασθενείς με ανιχνεύσιμη MRD μετά τη θεραπεία εφόδου. Οι αναστολείς του FLT3 και των IDH1 και IDH2 βρίσκονται ήδη σε κλινικές μελέτες, με ικανοποιητικά αποτελέσματα.⁵⁶⁻⁶⁰ Σημαντική θέση κερδίζουν και οι θεραπείες που στηρίζονται σε μονοκλωνικά αντισώματα. Για παράδειγμα το anti-CD33, παρόλο που το 2010 αποσύρθηκε από την αγορά λόγω τοξικότητας και αμφιβολιών για την αποτελεσματικότητά του, μελετήθηκε στη συνέχεια σε σύνδεση με άλλα δραστικά μόρια καθώς και με μόρια που ενεργοποιούν τα ειδικά CD33 T-λεμφοκύτταρα.⁶¹⁻⁶³ Εξίσου μεγάλο ενδιαφέρον έχουν και οι κυτταρικές θεραπείες με T-λεμφοκύτταρα με χιμαιρικούς αντιγονικούς υποδοχείς (CARs) έναντι των CD33 και CD123, όπως και ο εμβολιασμός με δενδριτικά κύτταρα, που έχουν εκτεθεί σε λευχαιμικά αντιγόνα.⁶⁴⁻⁶⁶ Προς το παρόν οι σχετικές μελέτες βρίσκονται σε πολύ πρώιμο στάδιο. Απαιτούνται τυχαιοποιημένες

μελέτες προκειμένου να αποδειχθεί αν οι νέες αυτές θεραπείες, χορηγούμενες ως μοναδική θεραπεία ή σε συνδυασμό με αλλο-ΜΑΚ θα οδηγήσουν σε βελτίωση της έκβασης των ασθενών με θετική MRD, μετά τη θεραπεία εφόδου.

Συμπεράσματα

Σημαντικό ποσοστό των ασθενών με ΟΜΛ που επιτυγχάνουν μορφολογική ύφεση με τη θεραπεία εφόδου, τελικά υποτροπιάζουν. Οι σύγχρονες ευαίσθητες εργαστηριακές μέθοδοι μέτρησης του φορτίου της νόσου αποτελούν αναμφισβήτητα σημαντικό εργαλείο για την κατανόηση της κινητικής της ΟΜΛ και την εκτίμηση της πρόγνωσης των ασθενών.^{67,68} Παρόλα αυτά η κυτταρογενετική και ανοσοφαινοτυπική ετερογένεια της ΟΜΛ δεν επιτρέπει την εφαρμογή ενιαίου τρόπου παρακολούθησης της MRD για όλους τους ασθενείς. Αντίθετα για κάθε ασθενή απαιτείται εξατομικευμένο πρόγραμμα παρακολούθησης, με βάση τον τύπο της ΟΜΛ και τα κλινικά χαρακτηριστικά. Το φορτίο της MRD αποτελεί αποδεδειγμένα ισχυρό προγνωστικό παράγοντα για την υποτροπή και τη συνολική επιβίωση και ήδη έχουν αρχίσει προσπάθειες ενσωμάτωσης του δείκτη αυτού στο σχεδιασμό της θεραπευτικής στρατηγικής στα πλαίσια κλινικών μελετών, με σκοπό τη βελτίωση των αποτελεσμάτων για τους ασθενείς με ΟΜΛ.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Dohner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Buchner T, Burnett AK, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*. 2010;115:453-474. PubMed PMID: 19880497.
2. Burnett AK, Russell NH, Hills RK, Hunter AE, Kjeldsen L, Yin J, et al. Optimization of chemotherapy for younger patients with acute myeloid leukemia: results of the

- medical research council AML15 trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2013;31:3360-3368. PubMed PMID: 23940227.
3. Kayser S, Walter RB, Stock W, Schlenk RF. Minimal residual disease in acute myeloid leukemia--current status and future perspectives. *Current hematologic malignancy reports*. 2015;10:132-144. PubMed PMID: 25994952.
 4. Grimwade D, Freeman SD. Defining minimal residual disease in acute myeloid leukemia: which platforms are ready for «prime time»? *Blood*. 2014;124:3345-3355. PubMed PMID: 25049280.
 5. Terstappen LW, Loken MR. Myeloid cell differentiation in normal bone marrow and acute myeloid leukemia assessed by multi-dimensional flow cytometry. *Analytical cellular pathology : the journal of the European Society for Analytical Cellular Pathology*. 1990;2:229-240. PubMed PMID: 1703434.
 6. Kern W, Bacher U, Haferlach C, Schnittger S, Haferlach T. The role of multiparameter flow cytometry for disease monitoring in AML. *Best practice & research Clinical haematology*. 2010;23:379-390. PubMed PMID: 21112037.
 7. Freeman SD, Virgo P, Couzens S, Grimwade D, Russell N, Hills RK, et al. Prognostic relevance of treatment response measured by flow cytometric residual disease detection in older patients with acute myeloid leukemia. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2013;31:4123-4131. PubMed PMID: 24062403.
 8. Al-Mawali A, Gillis D, Lewis I. The role of multiparameter flow cytometry for detection of minimal residual disease in acute myeloid leukemia. *American journal of clinical pathology*. 2009;131:16-26. PubMed PMID: 19095561.
 9. Baer MR, Stewart CC, Dodge RK, Leget G, Sule N, Mrozek K, et al. High frequency of immunophenotype changes in acute myeloid leukemia at relapse: implications for residual disease detection (Cancer and Leukemia Group B Study 8361). *Blood*. 2001;97:3574-3580. PubMed PMID: 11369653.
 10. Voskova D, Schoch C, Schnittger S, Hiddemann W, Haferlach T, Kern W. Stability of leukemia-associated aberrant immunophenotypes in patients with acute myeloid leukemia between diagnosis and relapse: comparison with cytomorphologic, cytogenetic, and molecular genetic findings. *Cytometry Part B, Clinical cytometry*. 2004;62:25-38. PubMed PMID: 15468339.
 11. Langebrake C, Brinkmann I, Teigler-Schlegel A, Creutzig U, Griesinger F, Puhlmann U, et al. Immunophenotypic differences between diagnosis and relapse in childhood AML: Implications for MRD monitoring. *Cytometry Part B, Clinical cytometry*. 2005;63:1-9. PubMed PMID: 15624201.
 12. Jaso JM, Wang SA, Jorgensen JL, Lin P. Multi-color flow cytometric immunophenotyping for detection of minimal residual disease in AML: past, present and future. *Bone marrow transplantation*. 2014;49:1129-1138. PubMed PMID: 24842529.
 13. Walter RB, Buckley SA, Pagel JM, Wood BL, Storer BE, Sandmaier BM, et al. Significance of minimal residual disease before myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for AML in first and second complete remission. *Blood*. 2013;122:1813-1821. PubMed PMID: 23847197. Pubmed Central PMCID: 3765060.
 14. Feller N, van der Velden VH, Brooimans RA, Boeckx N, Preijers F, Kelder A, et al. Defining consensus leukemia-associated immunophenotypes for detection of minimal residual disease in acute myeloid leukemia in a multicenter setting. *Blood cancer journal*. 2013;3:e129. PubMed PMID: 23912609. Pubmed Central PMCID: 3763381.
 15. San Miguel JF, Vidriales MB, Lopez-Berges C, Diaz-Mediavilla J, Gutierrez N, Canizo C, et al. Early immunophenotypical evaluation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia identifies different patient risk groups and may contribute to postinduction treatment stratification. *Blood*. 2001;98:1746-1451. PubMed PMID: 11535507.
 16. Sievers EL, Lange BJ, Alonzo TA, Gerbing RB, Bernstein ID, Smith FO, et al. Immunophenotypic evidence of leukemia after induction therapy predicts relapse: results from a prospective Children's Cancer Group study of 252 patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 2003;101:3398-3406. PubMed PMID: 12506020.
 17. Loken MR, Alonzo TA, Pardo L, Gerbing RB, Raimondi SC, Hirsch BA, et al. Residual disease detected by multidimensional flow cytometry signifies high relapse risk in patients with de novo acute myeloid leukemia: a report from Children's Oncology Group. *Blood*. 2012;120:1581-1588. PubMed PMID: 22649108. Pubmed Central PMCID: 3429302.
 18. Kern W, Voskova D, Schoch C, Schnittger S, Hiddemann W, Haferlach T. Prognostic impact of early response to induction therapy as assessed by multiparameter flow cytometry in acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2004;89:528-540. PubMed PMID: 15136215.
 19. Inaba H, Coustan-Smith E, Cao X, Pounds SB, Shurtleff SA, Wang KY, et al. Comparative analysis of different approaches to measure treatment response in acute myeloid leukemia. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2012;30:3625-3632. PubMed PMID: 22965955. Pubmed Central PMCID: 3462046.
 20. Buccisano F, Maurillo L, Spagnoli A, Del Principe MI, Fraboni D, Panetta P, et al. Cytogenetic and molecular diagnostic characterization combined to postconsolidation minimal residual disease assessment by flow cytometry improves risk stratification in adult acute myeloid leukemia. *Blood*. 2010;116:2295-2303. PubMed PMID: 20548095.
 21. Rubnitz JE, Inaba H, Dahl G, Ribeiro RC, Bowman WP, Taub J, et al. Minimal residual disease-directed therapy for childhood acute myeloid leukaemia: results

- of the AML02 multicentre trial. *The Lancet Oncology*. 2010;11:543-552. PubMed PMID: 20451454. Pubmed Central PMCID: 3171799.
22. Vidriales MB, Perez-Lopez E, Pegenaute C, Castellanos M, Perez JJ, Chandia M, et al. Minimal residual disease evaluation by flow cytometry is a complementary tool to cytogenetics for treatment decisions in acute myeloid leukaemia. *Leukemia research*. 2016;40:1-9. PubMed PMID: 26598032.
 23. Gabert J, Beillard E, van der Velden VH, Bi W, Grimwade D, Pallisgaard N, et al. Standardization and quality control studies of «real-time» quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program. *Leukemia*. 2003;17:2318-2357. PubMed PMID: 14562125.
 24. Ostergaard M, Nyvold CG, Jovanovic JV, Andersen MT, Kairisto V, Morgan YG, et al. Development of standardized approaches to reporting of minimal residual disease data using a reporting software package designed within the European LeukemiaNet. *Leukemia*. 2011;25:1168-1173. PubMed PMID: 21494256.
 25. Yin JA, O'Brien MA, Hills RK, Daly SB, Wheatley K, Burnett AK. Minimal residual disease monitoring by quantitative RT-PCR in core binding factor AML allows risk stratification and predicts relapse: results of the United Kingdom MRC AML-15 trial. *Blood*. 2012;120:2826-2835. PubMed PMID: 22875911.
 26. Jourdan E, Boissel N, Chevret S, Delabesse E, Renneville A, Cornillet P, et al. Prospective evaluation of gene mutations and minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood*. 2013;121:2213-2223. PubMed PMID: 23321257.
 27. Zhu HH, Zhang XH, Qin YZ, Liu DH, Jiang H, Chen H, et al. MRD-directed risk stratification treatment may improve outcomes of t(8;21) AML in the first complete remission: results from the AML05 multicenter trial. *Blood*. 2013;121:4056-62. PubMed PMID: 23535063.
 28. Forestier E, Heim S, Blennow E, Borgstrom G, Holmgren G, Heinonen K, et al. Cytogenetic abnormalities in childhood acute myeloid leukaemia: a Nordic series comprising all children enrolled in the NOPHO-93-AML trial between 1993 and 2001. *British journal of haematology*. 2003;121:566-77. PubMed PMID: 12752097.
 29. Byrd JC, Mrozek K, Dodge RK, Carroll AJ, Edwards CG, Arthur DC, et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood*. 2002;100:4325-4336. PubMed PMID: 12393746.
 30. Scholl C, Schlenk RF, Eiwen K, Dohner H, Frohling S, Dohner K, et al. The prognostic value of MLL-AF9 detection in patients with t(9;11)(p22;q23)-positive acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2005;90:1626-1634. PubMed PMID: 16330435.
 31. Weisser M, Kern W, Schoch C, Hiddemann W, Haferlach T, Schnittger S. Risk assessment by monitoring expression levels of partial tandem duplications in the MLL gene in acute myeloid leukemia during therapy. *Haematologica*. 2005;90:881-9. PubMed PMID: 15996925.
 32. Abildgaard L, Ommen HB, Lausen B, Hasle H, Nyvold CG. A novel RT-qPCR assay for quantification of the MLL-MLLT3 fusion transcript in acute myeloid leukaemia. *European journal of haematology*. 2013;91:394-398. PubMed PMID: 23772754.
 33. Ommen HB, Hokland P, Haferlach T, Abildgaard L, Alpermann T, Haferlach C, et al. Relapse kinetics in acute myeloid leukaemias with MLL translocations or partial tandem duplications within the MLL gene. *British journal of haematology*. 2014;165:618-628. PubMed PMID: 24611505.
 34. Kronke J, Schlenk RF, Jensen KO, Tschurtz F, Corbacioglu A, Gaidzik VI, et al. Monitoring of minimal residual disease in NPM1-mutated acute myeloid leukemia: a study from the German-Austrian acute myeloid leukemia study group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2011;29:2709-2716. PubMed PMID: 21555683.
 35. Kristensen T, Moller MB, Friis L, Bergmann OJ, Preiss B. NPM1 mutation is a stable marker for minimal residual disease monitoring in acute myeloid leukaemia patients with increased sensitivity compared to WT1 expression. *European Journal of haematology*. 2011;87:400-408. PubMed PMID: 21707751.
 36. Gorello P, Cazzaniga G, Alberti F, Dell'Oro MG, Gottardi E, Specchia G, et al. Quantitative assessment of minimal residual disease in acute myeloid leukemia carrying nucleophosmin (NPM1) gene mutations. *Leukemia*. 2006;20:1103-1108. PubMed PMID: 16541144.
 37. Ivey A, Hills RK, Simpson MA, Jovanovic JV, Gilkes A, Grech A, et al. Assessment of Minimal Residual Disease in Standard-Risk AML. *The New England journal of medicine*. 2016;374:422-433. PubMed PMID: 26789727.
 38. Schnittger S, Schoch C, Kern W, Hiddemann W, Haferlach T. FLT3 length mutations as marker for follow-up studies in acute myeloid leukaemia. *Acta haematologica*. 2004;112:68-78. PubMed PMID: 15179006.
 39. Shih LY, Huang CF, Wu JH, Lin TL, Dunn P, Wang PN, et al. Internal tandem duplication of FLT3 in relapsed acute myeloid leukemia: a comparative analysis of bone marrow samples from 108 adult patients at diagnosis and relapse. *Blood*. 2002;100:2387-2392. PubMed PMID: 12239146.
 40. Kottaridis PD, Gale RE, Langabeer SE, Frew ME, Bowen DT, Linch DC. Studies of FLT3 mutations in paired presentation and relapse samples from patients with acute myeloid leukemia: implications for the role of FLT3 mutations in leukemogenesis, minimal residual disease detection, and possible therapy with FLT3 inhibitors. *Blood*. 2002;100:2393-2398. PubMed PMID: 12239147.
 41. Cloos J, Goemans BF, Hess CJ, van Oostveen JW, Waisfisz Q, Corthals S, et al. Stability and prognostic

- influence of FLT3 mutations in paired initial and relapsed AML samples. *Leukemia*. 2006;20:1217-1220. PubMed PMID: 16642044.
42. Ley TJ, Ding L, Walter MJ, McLellan MD, Lamprecht T, Larson DE, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. *The New England journal of medicine*. 2010;363:2424-2433. PubMed PMID: 21067377. Pubmed Central PMCID: 3201818.
 43. Hou HA, Kuo YY, Liu CY, Chou WC, Lee MC, Chen CY, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia: stability during disease evolution and clinical implications. *Blood*. 2012;119:559-568. PubMed PMID: 22077061.
 44. Ploen GG, Nederby L, Guldberg P, Hansen M, Ebbesen LH, Jensen UB, et al. Persistence of DNMT3A mutations at long-term remission in adult patients with AML. *British journal of haematology*. 2014;167:478-486. PubMed PMID: 25371149.
 45. Jeziskova I, Musilova M, Culen M, Foltankova V, Dvorakova D, Mayer J, et al. Distribution of mutations in DNMT3A gene and the suitability of mutations in R882 codon for MRD monitoring in patients with AML. *International journal of hematology*. 2015;102:553-557. PubMed PMID: 26290145.
 46. Ostergaard M, Olesen LH, Hasle H, Kjeldsen E, Hokland P. WT1 gene expression: an excellent tool for monitoring minimal residual disease in 70% of acute myeloid leukaemia patients - results from a single-centre study. *British journal of haematology*. 2004;125:590-600. PubMed PMID: 15147374.
 47. Cilloni D, Renneville A, Hermitte F, Hills RK, Daly S, Jovanovic JV, et al. Real-time quantitative polymerase chain reaction detection of minimal residual disease by standardized WT1 assay to enhance risk stratification in acute myeloid leukemia: a European LeukemiaNet study. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2009;27:5195-201. PubMed PMID: 19752335.
 48. Lasa A, Carricondo M, Estivill C, Bussaglia E, Gich I, Brunet S, et al. WT1 monitoring in core binding factor AML: comparison with specific chimeric products. *Leukemia research*. 2009;33:1643-1649. PubMed PMID: 19427034.
 49. Nowakowska-Kopera A, Sacha T, Florek I, Zawada M, Czekalska S, Skotnicki AB. Wilms' tumor gene 1 expression analysis by real-time quantitative polymerase chain reaction for monitoring of minimal residual disease in acute leukemia. *Leukemia & lymphoma*. 2009;50:1326-1332. PubMed PMID: 19811333.
 50. Cancer Genome Atlas Research N. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *The New England journal of medicine*. 2013;368:2059-2074. PubMed PMID: 23634996. Pubmed Central PMCID: 3767041.
 51. Ommen HB. Monitoring minimal residual disease in acute myeloid leukaemia: a review of the current evolving strategies. *Therapeutic advances in hematology*. 2016;7:3-16. PubMed PMID: 26834951. Pubmed Central PMCID: 4713887.
 52. Kico JM, Miller CA, Griffith M, Petti A, Spencer DH, Ketkar-Kulkarni S, et al. Association Between Mutation Clearance After Induction Therapy and Outcomes in Acute Myeloid Leukemia. *JAMA*. 2015;314(8):811-22. PubMed PMID: 26305651. Pubmed Central PMCID: 4621257.
 53. Athale UH, Gibson PJ, Bradley NM, Malkin DM, Hitzler J, Group PMW. Minimal Residual Disease and Childhood Leukemia: Standard of Care Recommendations From the Pediatric Oncology Group of Ontario MRD Working Group. *Pediatric blood & Cancer*. 2016;63:973-982. PubMed PMID: 26914030.
 54. De Angelis F, Breccia M. Molecular Monitoring as a Path to Cure Acute Promyelocytic Leukemia. *Rare cancers and therapy*. 2015;3:119-132. PubMed PMID: 27182481. Pubmed Central PMCID: 4837932.
 55. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*. 2013;122:872-884. PubMed PMID: 23803709. Pubmed Central PMCID: 4915804.
 56. Gill H, Leung AY, Kwong YL. Molecularly targeted therapy in acute myeloid leukemia. *Future oncology*. 2016;12:827-838. PubMed PMID: 26828965.
 57. Fischer T, Stone RM, Deangelo DJ, Galinsky I, Estey E, Lanza C, et al. Phase IIB trial of oral Midostaurin (PKC412), the FMS-like tyrosine kinase 3 receptor (FLT3) and multi-targeted kinase inhibitor, in patients with acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome with either wild-type or mutated FLT3. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2010;28:4339-4345. PubMed PMID: 20733134. Pubmed Central PMCID: 4135183.
 58. Knapper S, Burnett AK, Littlewood T, Kell WJ, Agrawal S, Chopra R, et al. A phase 2 trial of the FLT3 inhibitor lestaurtinib (CEP701) as first-line treatment for older patients with acute myeloid leukemia not considered fit for intensive chemotherapy. *Blood*. 2006;108:3262-3270. PubMed PMID: 16857985.
 59. Fiedler W, Serve H, Dohner H, Schwittay M, Ottmann OG, O'Farrell AM, et al. A phase 1 study of SU11248 in the treatment of patients with refractory or resistant acute myeloid leukemia (AML) or not amenable to conventional therapy for the disease. *Blood*. 2005;105:986-993. PubMed PMID: 15459012.
 60. Metzelder SK, Schroeder T, Finck A, Scholl S, Fey M, Gotze K, et al. High activity of sorafenib in FLT3-ITD-positive acute myeloid leukemia synergizes with allo-immune effects to induce sustained responses. *Leukemia*. 2012;26:2353-2359. PubMed PMID: 22504140.
 61. Kung Sutherland MS, Walter RB, Jeffrey SC, Burke PJ, Yu C, Kostner H, et al. SGN-CD33A: a novel CD33-targeting antibody-drug conjugate using a pyrrolobenzodiazepine dimer is active in models of drug-resistant AML. *Blood*. 2013;122:1455-1463. PubMed PMID: 23770776.

62. Lapusan S, Vidriales MB, Thomas X, de Botton S, Vekhoff A, Tang R, et al. Phase I studies of AVE9633, an anti-CD33 antibody-maytansinoid conjugate, in adult patients with relapsed/refractory acute myeloid leukemia. *Investigational new drugs*. 2012;30:1121-1131. PubMed PMID: 21519855.
63. Laszlo GS, Gudgeon CJ, Harrington KH, Dell' Aringa J, Newhall KJ, Means GD, et al. Cellular determinants for preclinical activity of a novel CD33/CD3 bispecific T-cell engager (BiTE) antibody, AMG 330, against human AML. *Blood*. 2014;123:554-561. PubMed PMID: 24311721. Pubmed Central PMCID: 3901068.
64. Kenderian SS, Ruella M, Shestova O, Klichinsky M, Aikawa V, Morrissette JJ, et al. CD33-specific chimeric antigen receptor T cells exhibit potent preclinical activity against human acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2015;29:1637-1647. PubMed PMID: 25721896. Pubmed Central PMCID: 4644600.
65. Mardiros A, Dos Santos C, McDonald T, Brown CE, Wang X, Budde LE, et al. T cells expressing CD123-specific chimeric antigen receptors exhibit specific cytolytic effector functions and antitumor effects against human acute myeloid leukemia. *Blood*. 2013;122:3138-3148. PubMed PMID: 24030378. Pubmed Central PMCID: 3814731.
66. Van Tendeloo VF, Van de Velde A, Van Driessche A, Cools N, Anguille S, Ladell K, et al. Induction of complete and molecular remissions in acute myeloid leukemia by Wilms' tumor 1 antigen-targeted dendritic cell vaccination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107:13824-13829. PubMed PMID: 20631300. Pubmed Central PMCID: 2922237.
67. Walter MJ, Shen D, Ding L, Shao J, Koboldt DC, Chen K, et al. Clonal architecture of secondary acute myeloid leukemia. *The New England journal of medicine*. 2012;366:1090-1098. PubMed PMID: 22417201. Pubmed Central PMCID: 3320218.
68. Welch JS, Ley TJ, Link DC, Miller CA, Larson DE, Koboldt DC, et al. The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia. *Cell*. 2012;150:264-78. PubMed PMID: 22817890. Pubmed Central PMCID: 3407563.

Μοριακή διαγνωστική στα λεμφώματα: Τι χρειάζεται σήμερα;

ΜΑΡΙΑ ΔΗΜΟΥ¹, ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΙΔΗΣ²

¹Πανεπιστημιακή υπότροφος ΕΚΠΑ, Α΄ Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική και Ερευνητικό Αιματολογικό Εργαστήριο, ²Καθηγητής Αιματολογίας, Α΄ Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, ΕΚΠΑ, Γ.Ν.Α. Λαϊκό

Τα μη Hodgkin λεμφώματα (NHL) χαρακτηρίζονται από πληθώρα γενετικών/μοριακών βλαβών. Συγκεκριμένες και επαναλαμβανόμενες μοριακές βλάβες θεωρείται ότι έχουν σχέση με την αιτιοπαθογένεια συγκεκριμένων NHL, ενώ η ύπαρξη ορισμένων, έχει σχέση με την πρόγνυσή τους και ενδεχομένως τις θεραπευτικές στρατηγικές.

Η ανανεωμένη κατά WHO 2016 ταξινόμηση των λεμφικών νεοπλασιών έχει ενσωματώσει πολλές από τις μοριακές αυτές βλάβες στην κατάταξη των λεμφωμάτων αποδεικνύοντας έτσι τη βαρύνουσα σημασία τους¹. Αν και η διάγνωση στα περισσότερα λεμφώματα τίθεται με βάση τη μορφολογία και την ανοσοϊστοχημεία, οι μοριακές διαγνωστικές μέθοδοι μπορούν να βοηθήσουν στις δύσκολες περιπτώσεις, ενώ θεωρούνται απαραίτητες κάποιες φορές (π.χ. η ανίχνευση των MYC αναδιατάξεων για το λέμφωμα Burkitt).

Ο κλασικός καρυότυπος συνήθως δεν είναι χρήσιμος στη διαγνωστική των λεμφωμάτων, καθώς χρειάζονται ζωντανά και διαιρούμενα κύτταρα! Στην καθημερινή κλινική πρακτική, μπορεί να εφαρμοσθεί μόνο σε περιπτώσεις διήθησης του μυελού από τα λεμφωματικά κύτταρα. Αντίθετα, λεπτές τομές 4 μικρών σε διαγνωστικό υλικό (βιοψίες μυελού/λεμφαδένων/προσβεβλημένων οργάνων) η FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) με κατάλληλους σημασμένους με φθοριοχρώματα DNA ανιχνευτές για την υπό μελέτη χρωμοσωμική περιοχή/περιοχές, είναι η ενδειγμένη μέθοδος ανίχνευσης χρωμοσωμικών ελλείψεων, πολλαπλασιασμών, ή χρωμοσωμικών μεταθέσεων. Πλεονέκτημά της FISH είναι η δυνατότητα εκτέλεσής της σε οποιαδήποτε μονιμοποιημένο υλικό ενώ μει-

ονέκτημά της είναι ότι δίνει πληροφορίες μόνο για την αναζητούμενη χρωμοσωμική βλάβη. Η τεχνική FISH είναι μέθοδος εκλογής ανάδειξης ύπαρξης χρωμοσωμικών μεταθέσεων, σε λεμφώματα όπου τα σημεία τομής στις εμπλεκόμενες χρωμοσωμικές περιοχές είναι διεσπαρμένα σε μεγάλες χρωμοσωμικές αποστάσεις π.χ. λέμφωμα Burkitt, και MCL.

Το πρόγραμμα EuroFISH, μία συνεργασία μεταξύ 9 ευρωπαϊκών εργαστηρίων για την προτύπωση της FISH, έχει δημοσιεύσει οδηγίες για πρωτυπωμένη εκτέλεση και περιγραφή ευρημάτων της FISH στα λεμφώματα¹. Με την τήρηση των κανόνων αυτών, η ειδικότητα και ικανότητα ανίχνευσης χρωμοσωμικών βλαβών κατά τη διάγνωση λεμφώματος είναι της τάξεως του 100%.

Πολλά λεμφώματα χαρακτηρίζονται από την παρουσία τυπικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών, με συχνότερες τις αναδιατάξεις μεταξύ των γονιδίων IgH/TCR και άλλων γονιδίων στόχων (π.χ. MYC, BCL1, BCL2). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα φυσιολογικά (μη μεταλλαγμένα) γονίδια που συμμετέχουν στις μεταθέσεις αυτές να υπερεκφράζονται στα λεμφωματικά κύτταρα. Η ανίχνευση των αναδιατάξεων μπορεί να γίνει και με κατάλληλες PCR. Η PCR μπορεί να εκτελεστεί σε επίπεδο DNA (π.χ. BCL2/IgH) αλλά η ευαισθησία της μεθόδου αυτής είναι πολύ μικρότερη της FISH, η οποία είναι και η προτεινόμενη διαγνωστική τεχνική για διάγνωση της μετάθεσης. Σε περίπτωση που αποτέλεσμα της μετάθεσης είναι η δημιουργία υβριδικού RNA /πρωτεΐνης, RT-PCR σε RNA από τον παθολογικό ιστό μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο στην διάγνωση, όσο και στην παρακολούθηση υπολειμματικής νόσου (π.χ. RT-PCR για ανίχνευση της

μετάθεσης NPM/ALK σε T λεμφώματα)³.

Ανάδειξη μονοκλωνικών αναδιατάξεων της IgH και TCR

Η PCR για την ανίχνευση κλωνικών αναδιατάξεων των γονιδίων της IgH και του TCR μπορεί να γίνει σε DNA και είναι ένα βοηθητικό βήμα για τη διάγνωση των λεμφωμάτων, δεδομένου ότι αυτά προέρχονται κυρίως από κλωνικό πολλαπλασιασμό B ή T λεμφοκυττάρων. Σε ορισμένες δύσκολες διαφοροδιαγνωστικά περιπτώσεις, οι αναδιατάξεις αυτές είναι απαραίτητες για την διάγνωση του λεμφώματος. Η ευρωπαϊκή ομάδα BIOMED-2 ή EuroClonality group καθιέρωσε τη χρήση προτυπωμένων εκκινητών (primers), μεθοδολογία και οδηγίες για την εκτέλεση και την ερμηνεία των PCR αποτελεσμάτων ανάλυσης κλωνικότητας B και T λεμφοκυττάρων².

Νεότερες τεχνικές όπως η CGH (comparative genomic hybridization), η GEP (gene expression profiling), η NGC (next generation sequencing) κ.α. είναι σημαντικά διαγνωστικά εργαλεία, αν και δεν έχουν καθιερωθεί στην καθημερινή κλινική πρακτική στα λεμφώματα. Εν τούτοις έχουν βοηθήσει στην κατανόηση της αιτιοπαθογένειας πολλών λεμφωμάτων (π.χ. DLBCL, PTCL), δημιουργώντας νέες “μοριακές” πλέον ομάδες με διαφορετική πρόγνωση και ενδεχόμενη διαφορετική θεραπευτική προσέγγιση. Προϋπόθεση είναι βέβαια η δυνατότητα εκτέλεσής τους αναπαραγωγίμα και σε καθημερινή κλινική βάση.

Λέμφωμα Burkitt (BL)

Το BL χαρακτηρίζεται από την υπερέκφραση του ογκογονιδίου MYC (8q24.21), ως αποτέλεσμα της αντιμετάθεσης του με ένα γονίδιο ανοσοσφαιρίνης (14q32, ή 2q11, ή 22q11). Σε ένα ποσοστό μέχρι και 70% παρατηρούνται επιπλέον μεταλλάξεις του γονιδίου TCF3 ή του αρνητικού ρυθμιστή του ID3. Ο TCF3 προάγει την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό αφενός ενεργοποιώντας την οδό BCR/PI3K και αφετέρου μεταβάλλοντας τη δράση της κυκλίνης D3, η οποία και αυτή είναι μεταλλαγμένη σε ποσοστό 30% των BL⁵. Οι MYC αντιμεταθέσεις ανιχνεύονται με FISH ενώ η PCR δεν έχει κανένα ρόλο στην διάγνωση της μετάθεσης t(8: Ig). Έχουν περιγραφεί περιπτώσεις χωρίς υπερέκφραση του MYC, οι οποίες φέρουν την τυπική μορφολογία του BL και χαρακτηρίζονται από ανάλογη κλινική πορεία. Οι περιπτώσεις αυτές παρουσιάζουν σύμπλοκες διαταραχές στη θέση 11q (ελλείψεις ή πολλαπλασιασμό χρωμοσωμικών περιοχών), έχουν σύνθετο καρυότυπο και κυτταρολογικό

πλειομορφισμό⁶. Στην πρόσφατη ταξινόμηση WHO ενσωματώνεται ως προσωρινή οντότητα με τον τίτλο «*Burkitt-like lymphoma with 11q aberration*».

Διάχυτο B λέμφωμα από μεγάλα κύτταρα (DLBCL)

Τα DLBCL διαγιγνώσκονται βάσει της μορφολογίας τους και του ανοσοφαινότυπού τους. Η WHO 2008⁷ ταξινόμηση διέκρινε 3 «μοριακές υποομάδες» βασιζόμενη στο προφίλ της γονιδιακής έκφρασης (gene expression profiling-GEP): την υποομάδα GCB (germinal center B-cell-like), την υποομάδα ABC (activated B-cell-like) και την αταξινομήτη υποομάδα των DLBCL. Η GCB και ABC υποομάδες έχουν διαφορετικό γονιδιακό προφίλ και διαφορετική πρόγνωση. Καθώς η μέθοδος GEP δεν έχει καθιερωθεί στην καθημερινή κλινική πρακτική, υπάρχουν διάφοροι ανοσοϊστοχημικοί αλγόριθμοι που χρησιμοποιούν αντισώματα για το CD10, BCL6 και IRF4/MUM1 (π.χ. αλγόριθμος Hans) και οι οποίοι μπορούν να κατατάξουν ανοσοϊστοχημικά τα DLBC σε GCB και ABC. Εντούτοις δεν υπάρχει απόλυτη ταύτιση μεταξύ του μοριακού προφίλ και της ανοϊστοχημικής κατάταξης. Η διάκριση των DLBCL σε GCB και ABC (είτε μοριακά είτε ανοσοϊστοχημικά) εξακολουθεί να υφίσταται και στην πρόσφατη αναθεώρηση της WHO 2016, λόγω της ιδιαίτερης προγνωστικής της σημασίας.

Είναι επίσης γνωστό ότι τα DLBCL σχετίζονται συχνά με αναδιατάξεις των γονιδίων BCL6, BCL2 και MYC. Στην περίπτωση που υπάρχουν δύο ή τρεις από αυτές τις μοριακές βλάβες μιλάμε για τα «double hit» ή «triple hit» λεμφώματα, η πρόγνωση των οποίων είναι δυσμενής⁸. Ως εκ τούτου η αναζήτηση αυτών των μοριακών οντοτήτων μπορεί να έχει σημασία στη θεραπευτική μας επιλογή. Λόγω της ιδιαίτερα κακής πρόγνωσής τους η πρόσφατη WHO συμπεριέλαβε μία καινούρια οντότητα το «*High grade B-cell lymphoma [HGBL], with rearrangements of MYC and BCL2 and/or BCL6*». Ορισμένες φορές υπάρχει υπερέκφραση των πρωτεϊνών MYC και του BCL2 χωρίς τις γονιδιακές αναδιατάξεις. Οι περιπτώσεις αυτές (double expressors) δεν έχουν την ίδια κακή πρόγνωση με τα «double hit» λεμφώματα και δεν θα πρέπει να κατατάσσονται στην νέα αυτή ομάδα της WHO, έχουν όμως προγνωστική σημασία⁹. Δεν υπάρχει ακόμα συμφωνία για το ποιες είναι οι περιπτώσεις DLBCL στις οποίες πρέπει να γίνεται FISH για την ανίχνευση αναδιατάξεων του MYC του BCL6 και του BCL2. Ορισμένοι υποστηρίζουν ότι πρέπει να διενεργείται FISH σε κάθε διάγνωση DLBCL και άλλοι, μόνο όταν έχουμε GCB φαινότυπο και μορφολογία υψηλής διαφοροποίησης ή σε περιπτώσεις με >40%

MYC θετικά κύτταρα¹. Η FISH ανάλυση με ανιχνευτές για τις αντίστοιχες χρωμοσωμικές περιοχές, είναι η ενδεδειγμένη μέθοδος διάγνωσης των χρωμοσωμικών αυτών βλαβών.

Μια ακόμα νέα κατηγορία στην πρόσφατη WHO 2016 ταξινόμηση είναι και το «Large B-cell lymphoma with IRF4 rearrangement». Εμφανίζεται κυρίως σε παιδιά ή νεαρούς ενήλικες, με πιο συχνές θέσεις εντόπισης τον δακτύλιο του Waldeyer και τους τραχηλικούς λεμφαδένες. Ο τρόπος ανάπτυξης αυτού του λεμφώματος μπορεί να είναι οζώδης, διάχυτος ή μικτός, θυμίζοντας οζώδες λέμφωμα grade 3B ή τυπικό DLBCL. Στις περιπτώσεις αυτές παρατηρούνται ισχυρή έκφραση του IRF4/MUM1 και της BCL6 και υψηλός δείκτης μιτωτικού πολλαπλασιασμού. Οι περισσότερες περιπτώσεις φέρουν αναδιατάξεις IgH/IRF4 και ενίοτε αναδιατάξεις του BCL6, αλλά ποτέ αναδιατάξεις του BCL2¹⁰ που ανιχνεύονται με αντίστοιχες FISH.

Οζώδη λεμφώματα (ΟΛ)

Η αντιμετάθεση t(14;18)(q32;q21) είναι η γενετική ταυτότητα του οζώδους λεμφώματος, δεδομένου ότι ανιχνεύεται στο 85-90% των περιπτώσεων¹¹. Η αντιμετάθεση αυτή τοποθετεί το γονίδιο της BCL2 υπό τον έλεγχο του ενισχυτή της βαριάς αλυσίδας της ανοσοσφαιρίνης, με αποτέλεσμα την υπερέκφραση της BCL2 πρωτεΐνης, η οποία ως γνωστόν προσφέρει πλεονέκτημα στην επιβίωση των B λεμφοκυττάρων¹². Παρόλα αυτά η αντιμετάθεση t(14;18)(q32;q21) δεν μπορεί από μόνη της να οδηγήσει στη δημιουργία του λεμφώματος. Επίσης είναι γνωστό εδώ και πολλά χρόνια ότι κάποια υγιή άτομα, μεγάλης ηλικίας συνήθως, φέρουν τη συγκεκριμένη χρωμοσωμική βλάβη σε ένα μικρό ποσοστό των B λεμφοκυττάρων τους¹³.

Επιπλέον, κυτταρογενετικές αναλύσεις σε βιοψικά υλικά από ασθενείς με οζώδες λέμφωμα έχουν δείξει ότι στη διάγνωση συνυπάρχουν τουλάχιστον 4-6 γενετικές βλάβες κατά μέσο όρο [εκτός από την t(14;18)]¹⁴ (Πίνακας 1).

Η παρουσία των πολλαπλών αυτών γενετικών ανωμαλιών πιθανώς συμμετέχει στην μεγάλη κλινική ετερογένεια και στην εξέλιξη της νόσου. Ορισμένα από τα ανωτέρω γονίδια και ιδίως αυτά που εκφράζονται με ιδιαίτερα αυξημένη συχνότητα στη διάγνωση (π.χ. το MLL2, το EPHA7 κ.α.), μπορεί να αποτελέσουν πιθανούς θεραπευτικούς στόχους;

Σε σπανιότερες περιπτώσεις οζώδους λεμφώματος με διάχυτο τρόπο ανάπτυξης δεν ανευρίσκονται αναδιατάξεις του BCL2, ενώ αντίθετα ανιχνεύεται η έλλειψη 1p36. Οι περιπτώσεις αυτές χαρακτηρίζονται

Πίνακας 1. Οι γενετικές βλάβες στη διάγνωση του οζώδους λεμφώματος¹⁴.

Γονίδιο	Συχνότητα (%)
BCL2	αντιμετάθεση: 85
MLL2	89
EPHA7	70
BCL6	μετάλλαξη: 47 αντιμετάθεση: 6-14
TNFRSF14	18-46
CREBBP	33
MEF2B	15
EP300	9
EZH2	7
TNFAIP3/A20	2-26
FAS	6
TP53	<5

κλινικά από μεγάλες βουβωνικές μάζες¹⁵. Η έλλειψη 1p36 αναγνωρίζεται με FISH χρησιμοποιώντας κατάλληλο σεσημασμένο ιχνηθέτη. Η del1p36 πάντως, δεν είναι ειδική χρωμοσωμική βλάβη για τα οζώδη λεμφώματα.

Λέμφωμα από κύτταρα του μανδύα (MCL)

Η τυπική αναδιάταξη t(11;14)(q13;q32) στο MCL, φέρνει σε επαφή το πρωτοογκογονίδιο CCND1 (11q32) της κυκλίνης D1 με το γονίδιο της βαριάς αλυσίδας της ανοσοσφαιρίνης (14q32) και θεωρείται ότι είναι το αρχικό ογκογενετικό συμβάν για την εμφάνιση του MCL. Η αναδιάταξη αυτή οδηγεί σε συνεχή υπερέκφραση της κυκλίνης D1, η οποία δεν εκφράζεται στα φυσιολογικά B λεμφοκύτταρα.¹⁶ Η διαγνωστική μέθοδος με 100% ευαισθησία είναι FISH για ανίχνευση της χρωμοσωμικής μετάθεσης t(11.14). Αντιθέτως, DNA PCR με τους κατάλληλους εκκινητές, θα αναγνωρίσει μόλις το 60% επιβεβαιωμένων MCL.

Κύτταρα που φέρουν την τυπική αναδιάταξη t(11;14) ανιχνεύονται σε πολύ χαμηλά επίπεδα στο περιφερικό αίμα σε ένα ποσοστό 8% των φυσιολογικών ενηλίκων. Αυτοί οι κλώνοι μπορούν να παραμένουν ανιχνεύσιμοι για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα και είναι άγνωστο αν μπορούν να εξελιχθούν σε πραγματικό λέμφωμα¹⁷.

Επιπλέον, κύτταρα με την τυπική αυτή αναδιάταξη ανευρίσκονται ορισμένες φορές στην οριακή ζώνη κάποιων κατά τα άλλα αντιδραστικών λεμφαδένων

υγιών ενηλίκων. Οι περιοχές αυτές αναφέρονται στην πρόσφατη WHO 2016 ως «*in situ mantle cell neoplasia*», αλλά η κακοήθης δυναμική τους πιστεύεται πως είναι πολύ περιορισμένη¹⁸.

Δευτεροπαθείς χρωμοσωμικές βλάβες σε γονίδια που εμπλέκονται στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, την επιδιόρθωση του DNA και στις οδούς της κυτταρικής επιβίωσης (π.χ. TP53, ATM, RB1, CDK4, κ.α.) φαίνεται πως συμμετέχουν στην κλινική εμφάνιση του MCL¹⁹.

Είναι πλέον αποδεκτό ότι υπάρχουν περιπτώσεις λεμφωμάτων με τα κλινικά και παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά των MCL, στα οποία όμως δεν υπάρχει η τυπική αναδιάταξη t(11;14). Στις περισσότερες περιπτώσεις όμως που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία ανιχνεύονται αναδιατάξεις της CCND2 με την IGK ή την IGL²⁰.

Λευχαιμία εκ τριχωτών κυτάρων (HCL)

Γνωρίζουμε σήμερα με τη μεθοδολογία “whole exome sequencing” του γενωμικού DNA ότι μεταλλάξεις BRAF V600E ανιχνεύονται σε όλες τις περιπτώσεις HCL, αλλά όχι στην HCL variant ή σε άλλα λεμφώματα από μικρά B κύτταρα²¹. Η μετάλλαξη αυτή ανιχνεύεται στην καθημερινή κλινική πράξη με mutation specific DNA-PCR. Πιο πρόσφατα αναφέρθηκαν περιπτώσεις μεταλλάξεων του γονιδίου MAP2K1 που κωδικοποιεί τη MEK1 πρωτεΐνη (η οποία βρίσκεται μετά την BRAF στη σηματοδοτική οδό) στις μισές σχεδόν περιπτώσεις HCL variant, καθώς και στην πλειονότητα των BRAF V600E αρνητικών HCL που χρησιμοποιούν το γονίδιο IgV4-34. Οι περιπτώσεις αυτές χαρακτηρίζονται από μεγάλο φορτίο νόσου και σχετικά πτωχή ανταπόκριση στα ανάλογα πουρινών²². Οι ανωτέρω μεταλλάξεις εκτός από τη βοήθεια που προσφέρουν στη σωστή διαφορική διάγνωση των λεμφωμάτων αυτών, αποτελούν και θεραπευτικούς στόχους (π.χ. BRAF inhibitor-Vemurafenib).

Λεμφοπλασματοκυτταρικό λέμφωμα (LPL)/ Μακροσφαιριναιμία Waldenstrom

Με τη βοήθεια της μεθόδου whole exome sequencing αποδείχθηκε ότι στο 90% των περιπτώσεων LPL ή μακροσφαιριναιμίας Waldenstrom (LPL με IgM) ανιχνεύεται η σωματική μετάλλαξη MYD88 L265P (στη χρωμοσωμική θέση 3p22.2). Η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από την MYD88 L265P ενεργοποιεί την πρωτεΐνη IRAK (interleukin-1 receptor-associated kinase) και την BTK (Bruton Tyrosine Kinase), οι οποίες με τη σειρά τους ενεργοποιούν

τον NFκB²³. Η συγκεκριμένη μετάλλαξη ανιχνεύεται επίσης και σε άλλες αιματολογικές νόσους όπως στο IgM MGUS (όχι όμως και στο IgA ή το IgG), στο 30% των non GC DLBCL, και στις μισές περιπτώσεις των δερματικών και των leg-type DLBCL²⁴.

Η μετάλλαξη MYD88 μπορεί να βοηθήσει στη διάκριση της μακροσφαιριναιμίας Waldenstrom και των non-IgM LPL από άλλα χαμηλής κακοήθειας B λεμφώματα με παρόμοια χαρακτηριστικά. Επιπλέον η στόχευσή της ενδέχεται να αποτελέσει μελλοντικό θεραπευτικό στόχο²⁵.

Ένα ποσοστό 30% επίσης των ασθενών με Waldenstrom και μετάλλαξη MYD88 L265P, φέρουν σωματικές μεταλλάξεις στον CXCR4 (υποδοχέας χυμοκινών 4), οι οποίες προάγουν την επέκταση και την επιβίωση των λεμφωματικών κυττάρων^{26,27}. Οι περιπτώσεις αυτές έχουν πιθανά μη ικανοποιητική θεραπευτική ανταπόκριση στο Ibrutinib. Οι μεταλλάξεις CXCR4 είναι οι πρώτες σωματικές μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού που ανιχνεύθηκαν σε ασθενείς με νεοπλασία.

Η παρουσία της μετάλλαξης MYD88 στα LPL/MW φαίνεται ότι σχετίζεται με ηπιότερη κλινική εικόνα σε σχέση με τις μη μεταλλαγμένες περιπτώσεις, οι οποίες ούτως ή άλλως είναι λίγες. Επιπλέον η παρουσία της μετάλλαξης αυτής οδηγεί σε πολύ υψηλά ποσοστά ανταποκρίσεων στους νεότερους BTK αναστολείς (π.χ. Ibrutinib)²³. Τέλος η μετάλλαξη MYD88 ενδέχεται να αποτελέσει στο μέλλον ιδανικό δείκτη ελάχιστης υπολειμματικής νόσου (MRD) στη θεραπεία των LPL/MW με BTK αναστολείς, η οποία είναι εξαιρετικά αποτελεσματική²⁸.

Μικρό λεμφοκυτταρικό λέμφωμα / Χρόνια Λεμφοκυτταρική λευχαιμία (SLL/CLL)

Οι ασθενείς με SLL/CLL εμφανίζουν παθολογικό καρυότυπο σε ένα ποσοστό 50%. Σε μία υποδειγματική εργασία του 2000 οι Doehner και συνεργάτες χρησιμοποιώντας την τεχνική FISH έδειξαν ότι το 82% των ασθενών με CLL εμφανίζει κυτταρογενετικές βλάβες²⁹. Η συχνότητα αυτών των χρωμοσωμικών βλαβών παρουσιάζεται στον πίνακα 2.

Ήδη από την εργασία αυτή φάνηκε ότι η έλλειψη στο 17p χαρακτηρίζεται από τη χειρότερη πρόγνωση και το εύρημα αυτό επιβεβαιώθηκε σε πολλές μεταγενέστερες εργασίες. Η κακή πρόγνωση της έλλειψης στο 17p (σε αντίθεση με άλλες βλάβες όπως π.χ. η έλλειψη στο 11q) προσδίδει υποδεέστερες ανταποκρίσεις ακόμα και νεότερες θεραπείες³⁰.

Εκτός από τις κυτταρογενετικές βλάβες, και τον διαχωρισμό σε ασθενείς με υπερμεταλλάξεις ή μη

Πίνακας 2. Συχνότητα χρωμοσωμικών ανωμαλιών σε 325 ασθενείς με CLL²⁹.

Χρωμοσωμική ανωμαλία	Αριθμός ασθενών (%)
13q deletion	178(55)
11q deletion	58(18)
12q deletion	53(16)
17p deletion	23(7)
6q deletion	21(6)
8q trisomy	16(5)
t(14q32)	12(4)
3q trisomy	9(3)

στη μονοκλωνική βαρειά αλυσίδα (VH) της ανοσοσφαιρίνης, ένας σημαντικός αριθμός μεταλλάξεων με ιδιαίτερη προγνωστική σημασία έχει περιγραφεί τα τελευταία χρόνια. Πρόκειται για τις μεταλλάξεις των γονιδίων TP53, NOTCH1, SF3B1, ATM και BIRC. Έχουν όλες αρνητική προγνωστική σημασία (με σημαντικότερη αυτή του TP53 μεταλλάξεων). Η προσθήκη στη θεραπεία ενός anti-CD20 αντισώματος, προσφέρει σημαντικό θεραπευτικό όφελος. Αντίθετα, σε περιστατικά με ΧΛΛ και μεταλλάξεις στο γονίδιο NOTCH1, η προσθήκη στη χορηγούμενη χημειοθεραπεία anti-CD20 δεν προσφέρει κανένα θεραπευτικό πλεονέκτημα.³¹ Μεταλλάξεις επίσης στο γονίδιο SF3B1 ή BIRC συνοδεύονται από κακή θεραπευτικά ανταπόκριση και επιβίωση των ασθενών με ΧΛΛ.

Από όλες τις μοριακές βλάβες στη ΧΛΛ, μόνο έλλειψη 17p και/ή TP53, έχουν ενσωματωθεί στις θεραπευτικές απόφασεις³².

Αναπλαστικό λέμφωμα από μεγάλα κύτταρα (ALCL): ALK θετικό και αρνητικό

Το ALCL διαχωρίζεται από τα υπόλοιπα λεμφώματα από την αναπλαστική κυτταρολογική του εικόνα και την σταθερή μεμβρανική έκφραση του CD30 (έναν δείκτη ενεργοποίησης των Β και Τ λεμφοκυττάρων). Οι περισσότεροι ασθενείς (60-70%) με συστηματικό

ALCL παρουσιάζουν την αναδιάταξη μεταξύ των χρωμοσωμάτων 2 και 5, t(2;5)(p23;q35), η οποία οδηγεί στη δημιουργία της χιμαιρικής πρωτεΐνης, της NPM/ALK³³. Η πρωτεΐνη αυτή έχει παρεκκλίνουσα δράση κινάσης της τυροσίνης και πιθανότατα οδηγεί σε λευχαιμογένεση μέσω διαρκούς φωσφορυλίωσης ενδοκυττάρων στόχων. Λιγότερο συχνά ανιχνεύονται ALK πρωτεΐνες σύντηξης που προέρχονται από τις αναδιατάξεις (1;2), t(2;3), inv(2) και t(2;22)³³. Τα ALK θετικά ALCL είναι λιγότερο επιθετικά και με καλύτερη πρόγνωση από τα ALK αρνητικά³³. Τα ALK αρνητικά ALCL εμφανίζουν διαφορετικές αναδιατάξεις, όπως φάνηκε με τη βοήθεια τεχνικών όπως η CGH (πίνακας 3)³⁴.

Τα ανωτέρω ευρήματα έχουν και κλινική σημασία δεδομένου ότι οι ασθενείς με την αναδιάταξη DUPSP22: IRF4 έχουν καλύτερη πρόγνωση, ενώ η μικρή υποομάδα των ασθενών με TP63 (3q28) παρουσιάζουν πολύ επιθετική κλινική εικόνα³⁴.

Τα ALK αρνητικά ALCL στη WHO 2008 ταξινόμηση ήταν μία προσωρινή οντότητα, κυρίως λόγω της δυσκολίας διάκρισής τους από τα CD30+ περιφερικά Τ κυτταρικά λεμφώματα (PTLC). Νεότερες τεχνικές όπως η GEP έδειξαν ότι τα ALK αρνητικά ALCL έχουν γονιδιακή «υπογραφή» που προσομοιάζει περισσότερο στα ALK θετικά ALCL από ότι στα υπόλοιπα Τ/NK λεμφώματα. Οι περισσότερες από αυτές τις γονιδιακές βλάβες έχει φανεί ότι οδηγούν σε συνεχή ενεργοποίηση της οδού JAK/STAT3¹. Έτσι στην πρόσφατη WHO 2016 ταξινόμηση τα ALK αρνητικά ALCL είναι μία αυθύπαρκτη οντότητα.

MALT λέμφωμα στομάχου

Ένα ποσοστό 20% περίπου των ασθενών με MALT λέμφωμα στομάχου παρουσιάζει την αντιμέταθεση t(11; 18)(q21;q21), η οποία οδηγεί στη δημιουργία ενός γονιδίου σύντηξης, του API2/MALT1. Η χιμαιρική πρωτεΐνη που κωδικοποιείται οδηγεί σε συνεχή ενεργοποίηση της οδού του NFκB και φαίνεται ότι σχετίζεται άμεσα με την παθογένεση του λεμφώματος αυτού. Οι ασθενείς με MALT λέμφωμα στομάχου που

Πίνακας 3. Κυτταρογενετικές ανωμαλίες και μοριακά χαρακτηριστικά των ALK+ και ALK- ALCL³⁴.

ALK+ ALCL	ALK- ALCL
Επαναλαμβανόμενες αναδιατάξεις που αφορούν το ALK (t2;5): 85%	Επαναλαμβανόμενες αναδιατάξεις που αφορούν το DUSP22:IRF4 (6p25.3): 30%
t(2;v): 15%	Επαναλαμβανόμενες αναδιατάξεις που αφορούν το TP63 (3q28): 8%
Διπλασιασμούς των 7, 17p, 17q	Διπλασιασμούς των 1q, 6p, 8q, 12q
Ελλείψεις των 4, 11q, 13q	Ελλείψεις των 6q, 4q, 13q

δεν φέρουν τη συγκεκριμένη αντιμετάθεση έχουν καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία εκρίζωσης του *H. Pylori*, σε σχέση με αυτούς που είναι θετικοί (78 vs 22%), ενώ έχει αναφερθεί και καλύτερη επιβίωση για την πρώτη ομάδα^{35,36}.

Καθώς η αντιμετάθεση t(11; 18)(q21;q21) επηρεάζει την ανταπόκριση στη θεραπεία και την επιβίωση, πρέπει να διενεργείται FISH ή RT-PCR για την ανίχνευση της σε όλους τους νεοδιαγνωσμένους ασθενείς με MALT λέμφωμα στομάχου³⁷.

Άλλες γενετικές ανωμαλίες που έχουν παρατηρηθεί σε περιπτώσεις MALT λεμφώματος στομάχου είναι οι t(14;18)/IgH-MALT1, t(1;14)/BCL10-IgH και t(3;14)/FOXP1-IgH, εντούτοις είναι σπάνιες και η κλινική τους σημασία δεν έχει διευκρινιστεί ακόμα. Ως εκ τούτου δεν απαιτείται η αναζήτησή τους σε βάση ρουτίνας³⁷.

Τ Λεμφοβλαστικό λέμφωμα (T-LBL)

Το LBL είναι ένα σπάνιο επιθετικό νεόπλασμα που χαρακτηρίζεται από υπερπλασία πρόδρομων κυττάρων της Β ή Τ λεμφικής σειράς και ομοιάζει στην Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία. Το 80% των LBL είναι Τ. Το T-LBL παρατηρείται κυρίως σε παιδιά ή σε νεαρούς έφηβους. Βασικό χαρακτηριστικό της κλινικής εικόνας είναι η παρουσία μάζας στο μεσοθωράκιο, ενώ απαραίτητη για τη διάγνωση είναι η μικρή (<25%) ή μηδενική διήθηση του μυελού³⁸, μορφολογικό χαρακτηριστικό που την διακρίνει από την Τ- Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία (ALL). Λόγω του γεγονότος ότι τα περιστατικά T-LBL είναι λίγα, η θεραπευτική αντιμετώπιση δεν είναι εξειδικευμένη και γίνεται με τη χρήση των εντατικοποιημένων παιδιατρικών ALL πρωτοκόλλων. Εν τούτοις φαίνεται ότι η χρήση γενετικών προφίλ κινδύνου και άλλων «εργαλείων» όπως η MRD και το PET-scan μπορούν να βοηθήσουν στην αποφυγή κάποιων τμημάτων των παιδιατρικών ALL πρωτοκόλλων, όπως της ακτινοβολήσης του ΚΝΣ ή της αλλογενούς μεταμόσχευσης³⁸. Το T-LBL όπως και η T-ALL χαρακτηρίζεται από κλωνικές αναδιατάξεις του γονιδίου του TCR, αλλά μπορεί να ανευρίσκονται και αναδιατάξεις της βαριάς αλυσίδας της ανοσοσφαιρίνης IgVH (cross-lineage)². Οι αναδιατάξεις αυτές είναι ιδανικός μοριακός στόχος για την ανίχνευση MRD σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές που καθορίζονται από το αντίστοιχο θεραπευτικό πρωτόκολλο. Η παραμονή ανιχνεύσιμης MRD σε καθορισμένες χρονικές στιγμές επιβάλει ακόμη και αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών, παρά την απουσία μορφολογικά ανιχνεύσιμης νόσου.

Το 2013 μία γερμανική μελέτη με 438 περιπτώσεις παιδιατρικού T-LBL³⁹, που θεραπεύτηκαν με

το κλασσικό ALL πρωτόκολλο BFM περιέγραψε ότι μεταλλάξεις του NOTCH-1 ανιχνεύονται στο 60% των περιπτώσεων και έχουν ευνοϊκή πρόγνωση, ενώ οι μεταλλάξεις του FBXW7 που ανιχνεύονται στο 16% των περιστατικών και η απώλεια της ετεροζυγωτίας του χρωμοσώματος 6q (LOH 6q) που ανιχνεύονται στο 12% των περιστατικών έχουν αρνητική προγνωστική σημασία. Μία ακόμα γαλλική μελέτη με 54 παιδιατρικά T-LBL⁴⁰ επιβεβαίωσε την προγνωστική σημασία των ανωτέρω μεταλλάξεων, ενώ προσφάτως, η ομάδα GRALL-LYSA σε 118 ενήλικες ασθενείς (18-57 ετών)⁴¹ έδειξε ότι ένα πάνελ 4 μεταλλαγμένων ογκογονιδίων (NOTCH1/FBXW7/K, N-RAS/PTEN) αποτελούν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα της έκβασης του νοσήματος.

Είναι πολύ πιθανό λοιπόν οι μοριακές αυτές βλάβες που ανιχνεύονται κατ' επανάληψη στα T-LBL να ενσωματωθούν σε ένα μοριακό προφίλ κινδύνου που θα μπορεί να καθορίσει τις θεραπευτικές αποφάσεις για το νόσημα.

Συμπέρασμα

Ένας μεγάλος αριθμός μοριακών βλαβών ανιχνεύεται στα λεμφώματα με συμβολή: α) στη διάγνωση/καθορισμό τύπου του λεμφώματος, β) αναγνώριση υποομάδων βιολογικής ετερογένειας, γ) συμβολή στην επιλογή της κατάλληλης θεραπευτικής αγωγής ανά υποομάδα, σύμφωνα με τις υπάρχουσες Διεθνείς Οδηγίες θεραπευτικής αντιμετώπισης κάθε νοσήματος.

Οι αναγκαίες μοριακές εξετάσεις στα λεμφώματα, σύμφωνα με την αναθεωρημένη έκδοση της WHO 2016, είναι πολλαπλές, και εξειδικευμένες. Ορισμένες, απαιτούν σύγχρονο πολυδάπανο εξοπλισμό και ειδική τεχνολογία ανάλυσης των αποτελεσμάτων. Είναι λοιπόν επιβεβλημένο οι εξετάσεις αυτές να γίνονται σε εργαστήρια αναφοράς διαπιστευμένα για την πραγματοποίηση αυτών των ειδικών μοριακών εξετάσεων. Το ERIC (European Research Initiative in CLL), τμήμα της EHA, έχει αναλάβει πολλές πρωτοβουλίες: α) για την διαπίστευση ήδη πραγματοποιούμενων εξετάσεων π.χ. ανάλυση μεταλλάξεων p53 και ανάλυση υπερμεταλλάξεων της βαρείας αλυσίδας ανοσοσφαιρίνης. Παράλληλα υπάρχουν ομάδες εργασίας στο ERIC με σκοπό να προτυπώσουν τεχνικές Next Generation Sequencing (NGS) στην ανάλυση ύπαρξης μεταλλάξεων στα λεμφώματα. Οι τεχνικές NGS έχουν πολύ μεγαλύτερη ευαισθησία ανίχνευσης μεταλλάξεων, αλλά ο τρόπος ανάλυσης αντίστοιχων πειραμάτων και η ανάλυση των δεδομένων χρειάζεται ιδιαίτερα πολύπλοκα λογισμικά προς αποφυγή λαθών. Αναμένεται ότι στο μέλλον οι τεχνικές NGS θα συμ-

πληρώνουν/υποκαθιστούν τις τεχνικές αλληλούχισης DNA κατά Sanger. Προς το παρόν η ανίχνευση κατά Sanger έχει μεν πολύ μικρότερη ευαισθησία, αλλά είναι ασφαλής μέθοδος για ανίχνευση της αναζητούμενης μετάλλαξης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- van Rijk A, Mason D, Jones M, Cabeçadas J, Crespo M, Cigudosa JC, et al. Translocation detection in lymphoma diagnosis by split-signal FISH: a standardised approach. *J Hematopathol.* 2008; 1:119–126.
- Swerdlow S, Campo E, Pileri S, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization (WHO) classification of lymphoid neoplasms. *Blood First Edition Paper*, republished online March 15, 2016; DOI 10.1182/blood-2016-01-643569.
- Langerak AW, Groenen P, Brüggemann M, Beldjord K, Bellan C, Bonello L. EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. *Leukemia.* 2012; 26:2159–2171.
- Diss T, Molina TJ, Cabeçadas J, Langerak AW. Molecular diagnostics in lymphoma: why, when and how to apply. *Diagnostic Histopathology*, 2012; (18):53–63.
- Love C, Sun Z, Jima D, Li G, Zhang J, Miles R, et al. The genetic landscape of mutations in Burkitt lymphoma. *Nature Genetics.* 2012; (44):1321–1325.
- Salaverria I, Martin-Guerrero I, Wagener R, Kreuz M, Kohler C, Richter J, et al. A recurrent 11q aberration pattern characterizes a subset of MYC-negative high-grade B-cell lymphomas resembling Burkitt lymphoma. *Blood.* 2014; 123:1187–1198.
- Swerdlow S, Campo E, Harris NL, Jaffe E, Pileri S, Stein H, et al. WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, IARC 2008.
- Poire HR, Cairo MS, Heerema NA, Swansbury J, Aupérin A. Specific cytogenetic abnormalities are associated with a significantly inferior outcome in children and adolescents with mature B-cell non-Hodgkin's lymphoma: results of the FAB/LMB 96 international study *Leukemia.* 2009; 23:323–331.
- Johnson NA, Slack GW, Savage KJ, Connors JM, Ben-Neriah S, Rogic S, et al. Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol.* 2012; 30:3452–3459.
- Salaverria I, Philipp C, Oschlies I, Kohler CK, Kreuz M, Szczepanowski M, et al. Translocations activating IRF4 identify a subtype of germinal center-derived B-cell lymphoma affecting predominantly children and young adults. *Blood.* 2011; 118:139–144.
- Zelenetz AD, Chu G, Galili N, Bangs CD, Horning SJ, Donlon TA, et al. Enhanced detection of the t(14;18) translocation in malignant lymphoma using pulsed-field gel electrophoresis. *Blood.* 1991; 78:1552–1560.
- Weiss L, Warnke R, Sklar J, Cleary M. Molecular analysis of the T(14;18) chromosomal translocation in malignant lymphomas. *N Engl J Med.* 1987; 317:1185–1189.
- Summers K, Goff L, Wilson G, Gupta R, Lister A, Fitzgibbon J. Frequency of the Bcl-2/IgH rearrangement in normal individuals: Implications for the monitoring of disease in patients with follicular lymphoma. *J Clin Oncol.* 2001; 19:420–424.
- Kridel R, Sehn LH, Gascoyne RD. Pathogenesis of follicular lymphoma. *J Clin Invest.* 2012; 122:3424–3431.
- Katzenberger T, Kalla J, Leich E, Stöcklein H, Hartmann E, Barnickel S, et al. A distinctive subtype of t(14;18)-negative nodal follicular non-Hodgkin lymphoma characterized by a predominantly diffuse growth pattern and deletions in the chromosomal region 1p36. *Blood.* 2009; 113:1053–1061.
- Jares P, Colomer D, Campo E. Genetic and molecular pathogenesis of mantle cell lymphoma: perspectives for new targeted therapeutics. *Nat Rev Cancer.* 2007; 7:750–762.
- Lecluse Y, Lebailly P, Roulland S, Gac AC, Nadel B, Gauduchon P. t(11;14)-positive clones can persist over a long period of time in the peripheral blood of healthy individuals. *Leukemia.* 2009; 23:1190–1193.
- Carvajal-Cuenca A, Sua LF, Silva NM, Pittaluga S, Royo C, Song JY, et al. In situ mantle cell lymphoma: clinical implications of an incidental finding with indolent clinical behavior. *Hematologica.* 2012; 97:270–278.
- Jares P, Colomer D, Campo E. Molecular pathogenesis of mantle cell lymphoma. *J Clin Invest.* 2012; 122:3416–3423.
- Salaverria I, Royo C, Carvajal-Cuenca A, Clot G, Navarro A, Valera A, et al. CCND2 rearrangements are the most frequent genetic events in cyclin D1– mantle cell lymphoma. *Blood.* 2013; 121:1394–1402.
- Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G, Holmes A, Kern W, Martelli MP, et al. BRAF Mutations in hairy-cell leukemia. *N Eng J Med.* 2011; 364:2305–2315.
- Waterfall J, Arons E, Walker R, Pineda M, Roth L, Killian J, et al. High prevalence of MAP2K1 mutations in variant and IGHV4-34 expressing hairy-cell leukemia. *Nature Genetics.* 2014; 46:8–10.
- Treon SP, Xu L, Hunter Z. MYD88 mutations and response to ibrutinib in Waldenström's macroglobulinemia. *N Engl J Med.* 2015; 373:584–586.
- Swerdlow SH, Kuzu I, Dogan A, Dirnhofer S, Chan JK, Sander B, et al. The many faces of small B cell lymphomas with plasmacytic differentiation and the contribution of MYD88 testing. *Virchows Arch.* 2016; 468:259–275.
- Treon S, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, et al. MYD88 L265P somatic mutation in Waldenström's macroglobulinemia. *N Eng J Med.* 2012; 367:826–833.
- Cao Y, Xu L, Liu X, Zhou Y, Yang G, Patterson C, et al. Whole genome sequencing identifies recurring somatic mutations in the C-terminal domain of CXCR4, including a gain of function mutation in Waldenström's macroglobulinemia. *Blood.* 2012; 120:2715.

27. Roccaro A, Sacco A, Jimenez C, Maiso P, Moschetta M, Mishima Y, et al. A novel activating mutation of CXCR4 plays a crucial role in Waldenstrom macroglobulinemia biology. *Blood*. 2013; 122:272.
28. Rossi D. Role of MYD88 in lymphoplasmacytic lymphoma diagnosis and pathogenesis. *ASH Educational Book*. 2014; 113-118.
29. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Kröber A, Bullinger L, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2000; 28:1910-1916.
30. Fischer K, Bahlo J, Fink AM, Goede V, Herling CD, Cramer P, et al. Long-term remissions after FCR chemotherapy in previously untreated patients with CLL: updated results of the CLL8 trial. *Blood*. 2016; 127:208-215.
31. Foà P, Giudice I, Guarini A, Rossi D, Gaidano G. Clinical implications of the molecular genetics of chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica*. 2013; 98:675-685.
32. Dreger P, Schetelig J, Andersen N, Corradini P, van Gelder M, Gribben J. Managing high-risk CLL during transition to a new treatment era: stem cell transplantation or novel agents? *Blood*. 2014; 124:3841-3849.
33. Ferreria A, Govia S, Pileric S, Savage K. Anaplastic large cell lymphoma, ALK-positive. *Crit Rev Oncol/Hematol*. 2012; 83:293-302.
34. Hapgood G, Savage K. The biology and management of systemic anaplastic large cell lymphoma. *Blood*. 2015; 126:17-25.
35. Ruskone-Fourmestraux A, Fischbach W, Aleman BM, Boot H, Du MQ, Megraud F, et al. EGILS consensus report. Gastric extranodal marginal zone B-cell lymphoma of MALT. *Gut*. 2011; 60:747-758.
36. Chen T, Cen L, Xiao R, Yang JH, Jiang NK, Lu XZ, et al. Prognostic value of t(11; 18) (q21; q21) for gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Chin J Med Genet*. 2012, 29:181-183.
37. Hu Q, Zhang Y, Zhang X, Fu K. Gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma and Helicobacter pylori infection: a review of current diagnosis and management *Biomarker Research*. 2016; 4:15
38. Bassan R, Mairo E, Cortellazzo S. Lymphoblastic lymphoma: an updated review on biology, diagnosis and treatment. *Eur J Haematol*. 2015; 96:447-460
39. Bonn BR, Rohde M, Zimmermann M, Krieger D, Oschlies I, Niggli F, et al. Incidence and prognostic relevance of genetic variations in T-cell lymphoblastic lymphoma in childhood and adolescence. *Blood*. 2013; 121:153-3160
40. Callens C, Baleyrier F, Lengline E, Abdelali RB, Petit A, Villarese P, et al. Clinical Impact of NOTCH1 and/or FBXW7 Mutations, FLASH Deletion, and TCR Status in Pediatric T-Cell Lymphoblastic Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2012; 30:1966-1973
41. Lepretre S, Touzart A, Vermeulin T, Picquenot JM, Tanguy-Schmidt A, Salles G, et al. Pediatric-like acute lymphoblastic leukemia therapy in adults with lymphoblastic lymphoma: The GRAALL-LYSA LL03 Study. *J Clin Oncol*. 2016; 20:572-80.

Νέες θεραπευτικές στρατηγικές στο πολλαπλούν μυέλωμα

ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ ΚΑΣΤΡΙΤΗΣ, ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ ΤΕΡΠΟΣ, ΜΕΛΕΤΙΟΣ-ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΔΗΜΟΠΟΥΛΟΣ
Θεραπευτική Κλινική, Ιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Το πολλαπλούν μυέλωμα είναι μια από τις συχνότερες αιματολογικές κακοήθειες η οποία χαρακτηρίζεται από σημαντική ανομοιογένεια: οι άρρωστοι μπορεί να εμφανίζονται με ήπια αναιμία σαν μοναδικό σύμπτωμα ή μπορεί να προσέρχονται για την αντιμετώπιση καταστροφικών επιπλοκών όπως η οξεία νεφρική ανεπάρκεια, πολλαπλά κατάγματα, πίεση του νωτιαίου μυελού ή υπερασβεστιαϊμία. Σημαντικό ποσοστό όμως των αρρώστων θα διαγνωστεί με ασυμπτωματική νόσο (περίπου 10%-20%), πιθανά σε τυχαίο έλεγχο, με βιοχημική και ιστολογική διάγνωση ΠΜ αλλά χωρίς άλλη συμπτωματολογία από τη νόσο. Πολλοί από αυτούς του αρρώστους θα παραμείνουν χωρίς συμπτώματα και θεραπεία για μακρό χρονικό διάστημα ενώ άλλοι σε σύντομο χρόνο θα εμφανίσουν συμπτωματολογία (που αδρά αποδίδεται ως CRAB: HyperCalcemia, Renal dysfunction, Anemia, lytic Bone disease) και θα χρειαστούν θεραπεία¹. Μια σημαντική αλλαγή στην αντιμετώπιση του ΠΜ είναι ο καθορισμός δεικτών που επιτρέπουν την αναγνώριση των αρρώστων με ασυμπτωματικό ΠΜ που όμως έχουν πολύ υψηλό κίνδυνο (>80%) να εμφανίσουν συμπτώματα της νόσου και θεραπεία σε σύντομο χρονικό διάστημα (<2 χρόνια από τη διάγνωση). Οι δείκτες αυτοί είναι η παρουσία κλωνικής πλασματοκυτταρικής διήθησης $\geq 60\%$ στον μυελό, η παρουσία περισσότερων από μίας εστιών νόσου (διαμέτρου τουλάχιστον 5 mm) στη μαγνητική τομογραφία της ΣΣ (ή σε ολόσωμη MRI αν αυτή είναι διαθέσιμη) και η παρουσία λόγου ελεύθερων ελαφρών αλυσίδων ορού $\geq 100^1$. Οι παραπάνω δείκτες αφορούν περίπου 10-15% των αρρώστων με ασυμπτωματικό ΠΜ, αλλά σίγουρα απαιτούνται πιο ακριβείς ή επιπλέον δείκτες που να έχουν τη δυνατότητα αναγνώρισης των αρρώστων

εκείνων που θα έχουν σημαντικό όφελος από την προ-συμπτωματική έναρξη θεραπείας.

Πρόγνωση

Το ΠΜ διακρίνεται από σημαντική γενετική ετερογένεια, η οποία καθορίζει σε σημαντικό βαθμό την πρόγνωση, ανεξαρτήτως θεραπευτικών επιλογών. Άρρωστοι που φέρουν χρωμοσωμικές αντιμεταθέσεις που αφορούν στα t(4;14) ή t(14;16) ή έχουν έλλειψη στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 17 (del17p) έχουν σημαντικά πτωχότερη πρόγνωση, κυρίως λόγω της βραχύτερης περιόδου υφέσεων της νόσου και των ανθεκτικών υποτροπών. Τα παραπάνω δεδομένα έχουν ενσωματωθεί στο τροποποιημένο σύστημα κατά ISS (Revised-ISS)². Το R-ISS βασίζεται στο σύστημα ISS (International Staging System), την παρουσία των χρωμοσωμικών διαταραχών «υψηλού κινδύνου» και στην παρουσία αυξημένων τιμών της LDH του ορού. Άρρωστοι με νόσο ISS-3 και παρουσία είτε μιας εκ των χρωμοσωμικών διαταραχών «υψηλού κινδύνου» ή αυξημένης LDH κατατάσσονται ως R-ISS-3. Οι άρρωστοι με ISS-1 και χωρίς παρουσία χρωμοσωμικών διαταραχών ή αυξημένης LDH κατατάσσονται ως R-ISS-1. Οι υπόλοιποι άρρωστοι κατατάσσονται στην ομάδα R-ISS-2. Παρά τη χρήση νεώτερων παραγόντων στη θεραπεία των αρρώστων αυτών και την ευρεία χρήση αυτόλογης μεταμόσχευσης η πρόγνωση των αρρώστων με R-ISS-3 παραμένει πτωχή (διάμεση επιβίωση 43 μήνες, δηλ. ~3.5 έτη) ενώ αντίθετα η πρόγνωση των αρρώστων με R-ISS-1 φαίνεται να είναι ιδιαίτερα καλή με 5 έτη επιβίωση 82% και πιθανότητα 10ετούς επιβίωσης που μπορεί να ξεπερνά το 50%².

Θεραπεία του ΠΜ

Η βασική στρατηγική της αρχικής θεραπείας του ΠΜ συνεχίζει να βασίζεται στην «εισαγωγική» θεραπεία ακολουθούμενη από αυτόλογη μεταμόσχευση AAK για αρρώστους που είναι υποψήφιοι για AMAAK και στη θεραπεία με νεώτερους παράγοντες με ή χωρίς συμβατικές δόσεις αλκυλιούντων παραγόντων για αρρώστους που δεν είναι υποψήφιοι για AMAAK. Νεώτερα δεδομένα από μελέτες που ανακοινώθηκαν στο 2015 & 2016 όμως φαίνεται να αλλάζουν τον τρόπο με το οποίο θα αντιμετωπιστούν πολλοί άρρωστοι.

Άρρωστοι που είναι υποψήφιοι για AMAAK

Όσον αφορά τους αρρώστους που είναι υποψήφιοι για AMAAK, σχήματα με βάση 3 φάρμακα υπερτερούν έναντι σχημάτων που περιέχουν 2 φάρμακα. Η χορήγηση της βορτεζομίμπης στην εισαγωγική θεραπεία φαίνεται ότι προσφέρει τις υψηλότερες και βαθύτερες ανταποκρίσεις: ο βασικός σκελετός της εισαγωγικής θεραπείας προ της AMAAK είναι ο συνδυασμός βορτεζομίμπης και δεξαμεθαζόνης ενώ προστίθεται ένα τρίτο φάρμακο που μπορεί να είναι IMiD (όπως στα σχήματα VTD και VRD) ή η κυκλοφωσφαμίδη (σχήμα VCD ή CyBorD) ή η δοξορουβικίνη (σχήμα PAD). Η προσθήκη ενός τέταρτου φαρμάκου δεν φαίνεται να βελτιώνει την έκβαση ενώ αυξάνει σημαντικά την τοξικότητα όπως φάνηκε στη μελέτη EVOLUTION όπου συγκρίθηκαν οι συνδυασμοί VCD, VRD και VCDR³. Ομοίως, στη μελέτη των Ludwig και συν, η προσθήκη κυκλοφωσφαμίδης στον συνδυασμό VTD δεν βελτίωσε περαιτέρω την αποτελεσματικότητα αλλά αύξησε την τοξικότητα του συνδυασμού^{4,5}. Σχετικά με την επιλογή του καταλληλότερου συνδυασμού των τριών φαρμάκων μια αναδρομική των Cano και συν⁶ και μια προοπτική μελέτη (IFM 2013-04)^{7,8} συνέκριναν τον συνδυασμό VCD με τον συνδυασμό VTD και έδειξαν ότι ο συνδυασμός VTD επιτυγχάνει υψηλότερα ποσοστά ανταποκρίσεων (\geq PR σε 92.3% έναντι 83.4%, $p=0.01$) και σημαντικά βαθύτερες υφέσεις πριν την AMAAK (\geq VGPR σε 66.3% vs 56.2%, $p=0.05$), ενώ πιθανώς να επιτυγχάνονται καλύτερα αποτελέσματα με τον συνδυασμό VTD σε αρρώστους με κυτταρογενετικές ανωμαλίες υψηλού κινδύνου. Σε καμία από τις δύο μελέτες δεν υπήρχαν συγκριτικά δεδομένα για την έκβαση των αρρώστων μετά την AMAAK. Η τοξικότητα των δύο συνδυασμών είναι διαφορετική: ο συνδυασμός VTD σχετίζεται με υψηλότερο κίνδυνο νευροπάθειας και ο VCD με υψηλότερο κίνδυνο κυτταροπενιών. Με βάση τα παραπάνω ο συνδυασμός VTD είναι προτιμότερος σε αρρώστους με κυτταροπενίες, υψηλό φορτίο νόσου, κυτταρογε-

νετικές βλάβες υψηλού κινδύνου ή R-ISS-3, ενώ ο συνδυασμός VCD σε αρρώστους με υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης ή επιδείνωσης νευροπάθειας ή θρομβώσεων. Σε προοπτική μελέτη φάσης 3 ο συνδυασμός PAD συγκρίθηκε με τον συνδυασμό VCD, όπου και έδειξαν παρόμοια αποτελεσματικότητα (\geq PR σε 72% vs 78% και \geq VGPR σε 34% vs 37% για PAD και VCD αντίστοιχα) αλλά με ευνοϊκότερο προφίλ τοξικότητας και μικρότερη πιθανότητα εξέλιξης νόσου με τον συνδυασμό VCD⁹. Ο συνδυασμός VRD αποτελεί τον συχνότερα χρησιμοποιούμενο συνδυασμό στις ΗΠΑ όμως δεν έχει εγκριθεί από τον EMA ενώ συγκριτικά δεδομένα έναντι του συνδυασμού VTD δεν υπάρχουν. Συμπερασματικά, η εισαγωγική θεραπεία με τον συνδυασμό VTD και σε ορισμένες περιπτώσεις με τον συνδυασμό VCD αποτελεί την εγκεκριμένη θεραπεία εκλογής για την εισαγωγική θεραπεία των αρρώστων που είναι υποψήφιοι για AMAAK.

Ο ρόλος της AMAAK

Σήμερα έχουμε ισχυρά δεδομένα που υποστηρίζουν ότι η χορήγηση AMAAK στην πρώτη ύφεση της νόσου προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα τόσο όσον αφορά τη διάρκεια της ύφεσης αλλά και όσον αφορά την ολική επιβίωση των αρρώστων με ΠΜ. Τέσσερις προοπτικές τυχαίοποιημένες μελέτες, που χρησιμοποίησαν διαφορετικά εισαγωγικά σχήματα (RVD – λεναλιδομίδη, βορτεζομίμπη, δεξαμεθαζόνη στην IFM 2009¹⁰, Rd (λεναλιδομίδη, δεξαμεθαζόνη) στις μελέτες GIMEMA-RV-MM-209¹¹ και EMN-441¹² και VCD (βορτεζομίμπη, κυκλοφωσφαμίδη, δεξαμεθαζόνη) στην HOVON95/EMN2¹³), αλλά και θεραπεία συντήρησης με λεναλιδομίδη, έδειξαν ότι η AMAAK στην πρώτη ύφεση σαφώς ελαττώνει το κίνδυνο υποτροπής της νόσου κατά 25%-60%, με το όφελος να είναι σημαντικότερο στις μελέτες που δεν περιέλαβαν αναστολείς πρωτεασώματος στην εισαγωγική θεραπεία. Επιπλέον, η μετα-ανάλυση των δεδομένων των ασθενών που συμμετείχαν στις δύο Ιταλικές μελέτες GIMEMA-RV-MM-209 και EMN-441 έδειξαν ότι η χορήγηση AMAAK στην πρώτη ύφεση βελτιώνει σημαντικά και την ολική επιβίωση. Είναι επίσης ιδιαίτερα σημαντικό ότι στις δύο Ιταλικές μελέτες, περίπου οι 50% των αρρώστων που δεν έλαβαν AMAAK στην πρώτη ύφεση, δεν μπόρεσαν να λάβουν AMAAK σαν θεραπεία διάσωσης στη φάση της πρώτης υποτροπής για διάφορους λόγους, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό στη μελέτη IFM2009 ήταν περίπου 30%. Παρόλα αυτά, ακόμα και αν συνυπολογιστεί ότι δεν έλαβαν AMAAK σαν θεραπεία διάσωσης, το πλεονέκτημα της χορήγησης AMAAK

στην πρώτη ύφεση παραμένει. Από την περαιτέρω ανάλυση των παραπάνω μελετών προκύπτει ότι όλες οι υποομάδες αρρώστων έχουν σημαντικό όφελος από την AMAAK, με σημαντική ελάττωση του κινδύνου υποτροπής τόσο σε νεώτερους (<60) ή μεγαλύτερης ηλικίας αρρώστους, ανεξαρτήτως σταδίου ISS, και είτε φέρουν κυτταρογενετικές ανωμαλίες σταθερού ή αυξημένου κινδύνου. Συμπερασματικά, η AMAAK στην πρώτη ύφεση παραμένει η ενδεδειγμένη θεραπευτική στρατηγική για αρρώστους νεώτερους των 65 ετών και φαίνεται ότι η πρώτη ύφεση αποτελεί ένα παράθυρο ευκαιρίας για το μέγιστο όφελος από την AMAAK στους αρρώστους με ΠΜ.

Ο ρόλος της δεύτερης AMAAK

Η χορήγηση δεύτερης (διαδοχικής - tandem) AMAAK παραμένει ανοιχτό θέμα. Φαίνεται ότι οι άρρωστοι που φέρουν κυτταρογενετικές βλάβες υψηλού κινδύνου και όσοι δεν έχουν επιτύχει πλήρη ύφεση μετά την πρώτη AMAAK, πιθανώς ωφελούνται από διαδοχικές AMAAK. Τα παραπάνω προκύπτουν από την ανάλυση των μελετών HOVON 65¹⁴ και από την ανάλυση ευρωπαϊκών μελετών φάσης 3 από τους Cano και συν¹⁵. Η περαιτέρω θεραπεία εδραίωσης, μετά την AMAAK, με 2 ή περισσότερους κύκλους θεραπείας με συνδυασμούς όπως VTD, VRD ή άλλους είναι υπό διερεύνηση¹⁶.

Θεραπεία συντήρησης μετά AMAAK

Η θεραπεία συντήρησης μετά τη χορήγηση AMAAK, αυξάνει το χρονικό διάστημα της ύφεσης της νόσου, αλλά μέχρι σήμερα τα δεδομένα σχετικά με τη συνολική επιβίωση ήταν αμφισβητούμενα καθώς διαφορετικές μελέτες δεν έδειξαν σταθερά αποτελέσματα^{11,17,18}. Στο ASCO 2016 ανακοινώθηκαν τα αποτελέσματα μιας μεγάλης μετα-ανάλυσης που βασίστηκε στα δεδομένα των ασθενών 3 μελετών στις οποίες οι άρρωστοι είχαν τυχαιοποιηθεί να λάβουν Placebo ή συντήρηση με λεναλιδομίδη¹⁹. Η ανάλυση περιέλαβε 1209 αρρώστους μετά από μακρά παρακολούθηση, και οι άρρωστοι που έλαβαν θεραπεία συντήρησης με λεναλιδομίδη είχαν σημαντικά καλύτερη επιβίωση (61.8% έναντι 50.4% στα 7 έτη) με ελάττωση του κινδύνου θανάτου κατά 26% (σχετικός κίνδυνος 0.74, 95% CI 0.62-0.89, p=0.001). Η διαφορά αυτή στις καμπύλες επιβίωσης γίνεται εμφανής μετά τα 5 έτη, δείχνοντας για ακόμα μια φορά ότι ασφαλή συμπεράσματα που να αφορούν αρρώστους με ΠΜ χρειάζονται μακρά παρακολούθηση. Από την περαιτέρω ανάλυση, όμως, προκύπτει ότι μάλλον δεν ωφελούνται όλοι οι άρρωστοι από τη

θεραπεία συντήρησης με λεναλιδομίδη το ίδιο. Έτσι, μια προσεκτική ανάλυση της μελέτης δείχνει ότι το μέγιστο όφελος από τη θεραπεία συντήρησης με λεναλιδομίδη έχουν άρρωστοι με αρχική νόσο σταδίου 1 ή 2 κατά ISS, και χωρίς την παρουσία κυτταρογενετικών ανωμαλιών υψηλού κινδύνου. Αντίθετα, άρρωστοι με παρουσία t(4;14), t(14;16) ή del17p δεν φαίνεται να έχουν σημαντικό όφελος από τη συντήρηση με λεναλιδομίδη. Τα αποτελέσματα της μελέτης HOVON65 όμως δείχνουν ότι άρρωστοι υψηλού κινδύνου μπορεί να έχουν όφελος από τη θεραπεία συντήρησης με βάση τη βορτεζομίμη (για 2 έτη με βάση τον σχεδιασμό της μελέτης HOVON65)¹⁴. Ένα ανοιχτό ζήτημα παραμένει η αύξηση του κινδύνου δεύτερων κακοηθειών σε αρρώστους που λαμβάνουν μακροχρόνια λεναλιδομίδη. Στη μετα-ανάλυση φαίνεται πως ο σχετικός κίνδυνος είναι 1.7 για δεύτερους συμπαγείς όγκους και περίπου διπλάσιος για αιματολογικές κακοήθειες, όμως δεν ξεπερνά το όφελος από τη βελτίωση της συνολικής επιβίωσης με τη θεραπεία συντήρησης με λεναλιδομίδη¹⁹. Συμπερασματικά, η θεραπεία συντήρησης με λεναλιδομίδη βελτιώνει τη συνολική επιβίωση μετά AMAAK, κυρίως σε αρρώστους με ΠΜ σταθερού κινδύνου και το όφελος αυτό ξεπερνά τον πιθανό κίνδυνο δεύτερης κακοήθειας. Όμως, δεν έχει καθοριστεί η βέλτιστη διάρκεια της θεραπείας συντήρησης, αν και τουλάχιστον 2 έτη συντήρησης χρησιμοποιήθηκαν σε όλες τις μελέτες. Για αρρώστους με κυτταρογενετικές ανωμαλίες υψηλού κινδύνου η χορήγηση διαδοχικών AMAAK και η συντήρηση με αναστολέα πρωτεασώματος, ειδικά σε παρουσία del17p ή η συντήρηση με συνδυασμούς (π.χ. αναστολέα πρωτεασώματος και λεναλιδομίδη, ή συνδυασμοί με τα νεώτερα μονοκλωνικά αντισώματα) μπορεί να αποτελούν μια ελπιδοφόρο στρατηγική, που ήδη βρίσκεται υπό μελέτη.

Θεραπεία αρρώστων που δεν είναι υποψήφιοι για AMAAK

Η θεραπεία των αρρώστων που δεν είναι υποψήφιοι για AMAAK βασίζεται στη χορήγηση νεώτερων παραγόντων με ή χωρίς την προσθήκη αλκυλιούντων παραγόντων (συνήθως μελφαλάνης). Τόσος ο συνδυασμός MPT (μελφαλάνη, πρεδνιζόνη και θαλιδομίδη) όσο και ο συνδυασμός VMP (βορτεζομίμη, μελφαλάνη, πρεδνιζόνη) έχουν αντικαταστήσει τον συνδυασμό MP (μελφαλάνη, πρεδνιζόνη). Η μελέτη FIRST έδειξε ότι ο συνδυασμός Rd (λεναλιδομίδη και χαμηλή δόση εβδομαδιαίας δεξαμεθαζόνης) χορηγούμενος συνεχώς, μέχρι επιδείνωση της νόσου, βελτιώνει την έκβαση των αρρώστων με ΠΜ έναντι

του MPT²⁰. Ο συνδυασμός VMP παραμένει ίσως ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος προς το παρόν καθώς εμφανίζει ταχεία δράση, αλλά η βορτεζομίμη απαιτεί παρεντερική χορήγηση και είναι νευροτοξική. Η χορήγηση βορτεζομίμης μια αντί για δυο φορές την εβδομάδα ελαττώνει σημαντικά τη νευροτοξικότητα ενώ δεν φαίνεται να επηρεάζεται η αποτελεσματικότητα της θεραπείας²¹. Επιπλέον, η βορτεζομίμη πιθανόν να έχει μεγαλύτερη δραστηριότητα έναντι των άλλων νεώτερων σχημάτων με βάση μόνο IMiDs σε αρρώστους με κυτταρογενετικές ανωμαλίες υψηλού κινδύνου, ενώ πλεονεκτεί και στην αντιμετώπιση αρρώστων που εμφανίζονται με νεφρική ανεπάρκεια²². Όμως η πρόγνωση των ηλικιωμένων αρρώστων με ΠΜ, ιδιαίτερα αυτών ηλικίας >75 έτη, επηρεάζεται και από άλλους παράγοντες όπως οι διάφορες συνοσηρότητες που πολύ συχνά συνυπάρχουν με το ΠΜ και τελικά μπορεί να επηρεάσουν την τελική έκβαση^{23,24}. Σε ηλικιωμένους αρρώστους η προγνωστική αξία των διαφόρων γηριατρικών μετρήσεων είναι καθοριστική και θα πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν στον σχεδιασμό της θεραπείας. Επιπλέον, οι ηλικιωμένοι άρρωστοι είναι συχνά ευάλωτοι στις τοξικότητες της θεραπείας, με πιθανόν ολέθριες συνέπειες. Τρεις προοπτικές τυχαίοποιημένες μελέτες σε ηλικιωμένους ασθενείς έχουν δείξει ότι η προσθήκη ενός τρίτου παράγοντα είτε στον συνδυασμό βορτεζομίμης/δεξαμεθαζόνης²⁵ είτε στον συνδυασμό λεναλιδομίδης/δεξαμεθαζόνης²⁶ δεν βελτιώνει την έκβαση αλλά αυξάνει σημαντικά την τοξικότητα της θεραπείας. Γενικότερα, σε ηλικιωμένους αρρώστους με ΠΜ, η σύσταση είναι οι δοσολογίες τόσο της δεξαμεθαζόνης αλλά και της θαλιδομίδης να ελαττώνονται, η χορήγηση της βορτεζομίμης να γίνεται εβδομαδιαία και υποδορίως, ενώ παρά τα φυσιολογικά επίπεδα κρεατινίνης θα πρέπει να προσδιορίζεται η νεφρική κάθαρση και να προσαρμόζεται και η δόση της λεναλιδομίδης, καθώς ακόμα και φυσιολογική τιμή κρεατινίνης μπορεί να σημαίνει σημαντική νεφρική δυσλειτουργία σε ηλικιωμένους ασθενείς²³.

Νεφρική Ανεπάρκεια

Η οξεία νεφρική ανεπάρκεια είναι από τις συχνότερες επιπλοκές του ΠΜ αλλά μπορεί να προϋπάρχει και να αποτελεί ένα ακόμα παράγοντα που επιβαρύνει την πρόγνωση²⁷. Οι συνδυασμοί με βάση τη βορτεζομίμη φαίνεται ότι πλεονεκτούν έναντι των άλλων νεώτερων παραγόντων (λεναλιδομίδη ή θαλιδομίδη) στην αντιμετώπιση των αρρώστων με ΠΜ που εμφανίζουν νεφρική ανεπάρκεια στην αρχική διάγνωση²². Υπο-ανάλυση της μελέτης FIRST έδειξε ότι σε ηλικιωμένους αρρώστους με σοβαρή

NA η χορήγηση του συνδυασμού Rd δεν πλεονεκτεί έναντι του MPT²⁸. Η υψηλές δόσεις δεξαμεθαζόνης δεν επηρεάζουν την πιθανότητα αποκατάστασης της νεφρικής λειτουργίας φαίνεται όμως ότι επιταχύνουν αυτήν την αποκατάσταση²². Η χορήγηση τριπλών συνδυασμών πλεονεκτεί έναντι των διπλών συνδυασμών, πάντα με βάση τη βορτεζομίμη²⁹. Είναι σημαντικό ότι με τη χορήγηση των συνδυασμών με βάση τη βορτεζομίμη περίπου 50% των αρρώστων με ONA που χρειάζονται αιμοκάθαρση θα αποκαταστήσουν τη νεφρική τους λειτουργία. Επίσης είναι σημαντικό ότι η χρησιμοποίηση ειδικών φίλτρων αιμοκάθαρσης (high cutoff dialysis) δεν βελτίωσε την πιθανότητα διακοπής της αιμοκάθαρσης όταν χρησιμοποιήθηκαν μαζί με συστηματική θεραπεία με βάση τη βορτεζομίμη, όπως έδειξαν τα αποτελέσματα της τυχαίοποιημένης προοπτικής μελέτης EuLITE³⁰. Για τα νεώτερα φάρμακα όπως η καρφιλζομίμη και η πομαλιδομίδη δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για την αποτελεσματικότητα σε άρρωστους με σοβαρή NA, αν και οι δυο παράγοντες φαίνεται ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν χωρίς τροποποίηση της δοσολογίας σε αρρώστους με σοβαρή νεφρική δυσλειτουργία, ακόμα και σε αιμοκάθαρση³¹⁻³². Τα δεδομένα σχετικά με την ιξαζομίμη είναι περιορισμένα και η χορηγούμενη δόση χρειάζεται μείωση από 4 σε 3 mg την ημέρα σε αρρώστους με σοβαρή νεφρική δυσλειτουργία³³. Τα μονοκλωνικά αντισώματα (δαταουμουμάμη και ελοτουζουμάμη) δεν φαίνεται να χρειάζονται προσαρμογή σε αρρώστους με νεφρική δυσλειτουργία αλλά τα δεδομένα είναι ελάχιστα.

Πλασμαβλαστική λευχαιμία

Η πρόγνωση της πρωτοπαθούς πλασμαβλαστικής λευχαιμίας παραμένει φτωχή παρά την εισαγωγή των νεώτερων φαρμάκων, με διάμεση επιβίωση 1-2 έτη. Η γαλλική ομάδα παρουσίασε τα αποτελέσματα προοπτικής μελέτης σε 40 αρρώστους <70 ετών, με χορήγηση 4 κύκλων θεραπείας όπου εναλλάσσονται η χορήγηση του σχήματος VCD με το σχήμα PAD (βορτεζομίμη, δοξορουβικίνη και δεξαμεθαζόνη) ακολουθούμενη από AMAAK σε αρρώστους που πέτυχαν ύφεση με <1% πλασμαβλάστες στο περιφερικό αίμα. Οι άρρωστοι που πέτυχαν τουλάχιστον πολύ καλή μερική ύφεση και είχαν συμβατό συγγενή δότη έλαβαν αλλογενή μεταμόσχευση με προπαρασκευαστικό σχήμα ελαττωμένης έντασης (Reduced intensity – RIC), ενώ άρρωστοι χωρίς συγγενή συμβατό δότη ή που δεν είχαν πετύχει πολύ καλή ύφεση έλαβαν δεύτερη AMAAK και ακολούθως για ένα έτος θεραπεία συντήρησης με βορτεζομίμη, λεναλιδομίδη και

δεξαμεθαζόνη. Ο διάμεσος χρόνος μέχρι εξέλιξη της νόσου ήταν 15 μήνες περίπου και η διάμεση συνολική επιβίωση 36 μήνες, παρά την εντατική θεραπεία³⁴. Έτσι φαίνεται ότι η χορήγηση εντατικών σχημάτων μπορεί να βελτιώσει την έκβαση ορισμένων επιλεγμένων αρρώστων με πλασμαβλαστική λευχαιμία, αλλά γενικά παραμένει ιδιαίτερα κακή.

Θεραπεία των υποτροπών της νόσου

Τα τελευταία δύο έτη παρουσιάστηκαν τα δεδομένα από πολλές μελέτες φάσης 3 συνδυασμών με σημαντική αποτελεσματικότητα στην αντιμετώπιση των αρρώστων με ΠΜ που η νόσος εμφανίζει υποτροπή μετά από 1-3 γραμμές θεραπείας, αλλά και με προηγούμενη έκθεση σε νέους παράγοντες (βορτεζομίμη και λεναλιδομίδη) ή/και AMAAK. Οι περισσότερες από αυτές τις μελέτες αφορούσαν συνδυασμούς ενός καθιερωμένου φαρμάκου, όπως η λεναλιδομίδη ή η βορτεζομίμη με δεξαμεθαζόνη και την προσθήκη ενός νεώτερου παράγοντα, ενώ το σκέλος ελέγχου αφορούσε συνδυασμό δύο φαρμάκων (λεναλιδομίδη ή βορτεζομίμη με δεξαμεθαζόνη) με την προϋπόθεση ότι οι αρρώστοι που δεν είχαν προηγουμένως αντοχή στο διπλό συνδυασμό. Όλες οι μελέτες έδειξαν ότι τρία φάρμακα έναντι δυο φαρμάκων βελτιώνουν την πιθανότητα ανταπόκρισης, και αυξάνουν σημαντικά το χρόνο μέχρι την υποτροπή της νόσου. Τα δεδομένα για την ολική επιβίωση δεν είναι ακόμα ώριμα.

Συνδυασμοί αναστολέων πρωτεασώματος και IMiDs

Στη μελέτη ASPIRE ο συνδυασμός καρφιλοζομίμης (σε δόση 20/27 mg/m²) με Rd (KRd) αύξησε την πιθανότητα ανταπόκρισης (τουλάχιστον μερική ύφεση 87.1% έναντι 66.7%, με πλήρη ύφεση σε 31.8% έναντι 9.3%) και ελάττωσε το κίνδυνο υποτροπής κατά 31% (με διάμεσο χρόνο μέχρι επιδείνωση της νόσου 26.3 έναντι 17.6 μήνες, p=0.0001) έναντι του Rd³⁵. Στη μελέτη TOURMALIN ο συνδυασμός ιξαζομίμης με Rd (IRd) ελάττωσε τον κίνδυνο υποτροπής κατά 26% (με διάμεσο χρόνο μέχρι επιδείνωση της νόσου 20.6 έναντι 14.7 μήνες, p=0.01) έναντι του Rd, ενώ σε προσχεδιασμένη ανάλυση σε αρρώστους με παρουσία κυτταρογενετικών υψηλού κινδύνου ελάττωσε το κίνδυνο υποτροπής κατά 46% (σχετικός κίνδυνος 0.54, με διάμεσο χρόνο μέχρι επιδείνωση της νόσου 21.4 έναντι 9.7μήνες)³⁶.

Συνδυασμοί ανοσοθεραπείας και IMiDs

Η μελέτη ELOQUENT-2 έδειξε ότι ο συνδυασμός του μονοκλωνικού αντισώματος έναντι του αντιγόνου

SLAMF-7 [ελοτουζουμάμπη (elotuzumab)] με Rd ελάττωσε τον κίνδυνο υποτροπής έναντι του Rd κατά 30% (σχετικός κίνδυνος 0.7, διάμεσος χρόνος μέχρι εξέλιξη της νόσου 19.4 έναντι 14.9 μήνες, p<0.001) με αύξηση των συνολικών ανταποκρίσεων σε 79% έναντι 66%³⁷. Μια ιδιαίτερα σημαντική εξέλιξη ήταν η ανακοίνωση των αποτελεσμάτων του συνδυασμού του μονοκλωνικού αντισώματος έναντι του αντιγόνου επιφανείας CD38 δαρατουμουμάμπη (Daratumumab) με Rd, η οποία έδειξε εντυπωσιακή ελάττωση του κινδύνου υποτροπής της νόσου κατά 63% (σχετικός κίνδυνος 0.37, με προβλεπόμενο διάστημα μέχρι εξέλιξη της νόσου που πιθανόν φτάνει τα 4 έτη (78% στους 18 μήνες) έναντι 18.4 μηνών για τον συνδυασμό Rd, p<0.001)³⁸.

Συνδυασμοί αναστολέων πρωτεασώματος με μονοκλωνικά αντισώματα

Στη μελέτη CASTOR ο συνδυασμός του Vd (βορτεζομίμη & δεξαμεθαζόνη) με τη δαρατουμουμάμπη ελάττωσε τον κίνδυνο υποτροπής έναντι του Vd κατά 61% (σχετικός κίνδυνος 0.39, ελεύθερη επιδείνωση νόσου επιβίωση στους 12 μήνες 60.7% έναντι 26.9%, p<0.001)³⁹. Σε προοπτική μελέτη φάσης 2, ο συνδυασμός του Vd με ελοτουζουμάμπη επίσης έδειξε βελτίωση του χρόνου μέχρι επιδείνωση της νόσου και των ανταποκρίσεων⁴⁰.

Συνδυασμοί με αναστολείς της αποακετυλάσης των ιστονών

Οι συνδυασμοί αναστολέων πρωτεασώματος με αναστολείς της αποακετυλάσης των ιστονών έχουν δείξει κλινική δραστηριότητα σε δυο μελέτες φάσης 3, οι οποίες έδειξαν ότι ο συνδυασμός Vd και βορινοστάτη (μελέτη VANTAGE-088)⁴¹ και ο συνδυασμός Vd και πανομπινοστάτη (μελέτη PANORAMA-1) είναι αποτελεσματικότεροι του Vd⁴². Οι συνδυασμοί με τη βορινοστάτη δεν έχουν προχωρήσει στην κλινική πρακτική λόγω τοξικότητας και οριακού κλινικού οφέλους, όμως ο συνδυασμός Vd και πανομπινοστάτης έδειξε ότι μπορεί να πετύχει σημαντικό κλινικό όφελος σε αρρώστους που έχουν ήδη εκτεθεί τόσο σε βορτεζομίμη όσο και σε λεναλιδομίδη και έχει λάβει έγκριση τόσο από τον FDA όσο και από τον EMA⁴³.

Σύγκριση αναστολέων πρωτεασώματος

Σήμερα υπάρχουν διαθέσιμοι και εγκεκριμένοι (σε διαφορετικές ενδείξεις) τρεις διαφορετικοί αναστολείς πρωτεασώματος: η βορτεζομίμη, η καρφιλοζομίμη

και η ιξαζομίμπη. Στη μελέτη ENDEAVOR συγκρίθηκε η αποτελεσματικότητα των δυο παρεντερικά χορηγούμενων αναστολέων (βορτεζομίμπη και καρφιλζομίμπη, αλλά η τελευταία σε δόση 56 mg/m²) σε συνδυασμό με δεξαμεθαζόνη σε ασθενείς με νόσο σε υποτροπή αλλά ευαίσθητη σε αναστολείς πρωτεασώματος (βορτεζομίμπη) και μετά από 1-3 προηγούμενες γραμμές θεραπείας⁴⁴. Ο συνδυασμός της καρφιλζομίμπης με δεξαμεθαζόνη έδειξε ελάττωση του κινδύνου υποτροπής κατά 47% (σχετικός κίνδυνος 0.53) με διάμεσο διάστημα μέχρι εξέλιξη της νόσου 18.7 μήνες, έναντι 9.4 μήνες για τον συνδυασμό Vd (p<0.0001). Η διαφορά αυτή παρέμεινε σημαντική και στις υποομάδες των αρρώστων που είχαν προηγουμένως εκτεθεί σε βορτεζομίμπη.

Επιλογή θεραπείας σε αρρώστους με 1-3 προηγούμενες γραμμές θεραπείας

Με βάση τα κριτήρια επιλογής των ασθενών που έλαβαν μέρος στις μελέτες μπορούμε να διακρίνουμε μερικές βασικές κατηγορίες αρρώστων που πιθανόν να έχουν μεγαλύτερο όφελος από ορισμένους συνδυασμούς, με βάση πάντα τα δημοσιευμένα αποτελέσματα των μελετών φάσης 3 (Πίνακας 1).

Άρρωστοι με προηγούμενη ανοχή στη βορτεζομίμπη

με βάση τα αποτελέσματα των μελετών ASPIRE³⁵, POLLUX³⁸ και ELOQUENT-1³⁷, άρρωστοι με προηγούμενη ανοχή στη βορτεζομίμπη θα μπορούσαν να έχουν σημαντικό όφελος από τη χορήγηση των συνδυασμών της λεναλιδομίδης με δεξαμεθαζόνη και ενός τρίτου παράγοντα όπως καρφιλζομίμπης (KRd)³⁵, ελοτουζουμάμπης (Elo-Rd)³⁷ ή δαρατουμουάμπης (D-Rd)³⁸.

Άρρωστοι με προηγούμενη ανοχή στη λεναλιδομίδη

Με βάση τα αποτελέσματα των μελετών CASTOR³⁹

& PANORAMA^{42,43} αυτοί οι άρρωστοι θα μπορούσαν να έχουν σημαντικό όφελος από τη χορήγηση συνδυασμών με βορτεζομίμπη και δεξαμεθαζόνη και ενός τρίτου παράγοντα όπως η δαρατουμουάμπη³⁹ ή η πανοβινοστάτη^{42,43}. Επίσης με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης ENDEAVOR⁴⁴ θα μπορούσαν να έχουν σημαντικό όφελος με τη χορήγηση του συνδυασμού καρφιλζομίμπης και δεξαμεθαζόνης (Kd) αντί του συνδυασμού βορτεζομίμπης και δεξαμεθαζόνης. Όμως ο συνδυασμός καρφιλζομίμπης και δεξαμεθαζόνης δεν έχει συγκριθεί με τριπλούς συνδυασμούς με βάση τη βορτεζομίμπη. Τα αποτελέσματα του συνδυασμού βορτεζομίμπης και δεξαμεθαζόνης με ελοτουζουμάμπη προέρχονται από μελέτη φάσης 2 και δεν είναι ακόμα ώριμα για να υποστηρίξουν τη χρήση του συνδυασμού⁴⁰.

Άρρωστοι με προηγούμενη ανοχή στη λεναλιδομίδη και στη βορτεζομίμπη

Ο συνδυασμός της πομαλιδομίδης και της δεξαμεθαζόνης έχει δείξει ότι μπορεί να επιτύχει τουλάχιστον μερική ύφεση της νόσου σε 31% έως 32.6% των αρρώστων με βάση τα αποτελέσματα των μελετών MM003⁴⁵ και STRATUS⁴⁶, με διάμεσο διάστημα μέχρι εξέλιξη της νόσου περίπου 4 έως 4.6 μήνες και ολική επιβίωση 11.9 έως 12.7 μήνες, σε αρρώστους με νόσο ανθεκτική στην τελευταία γραμμή θεραπείας, στη λεναλιδομίδη όσο και στη βορτεζομίμπη. Με βάση τα αποτελέσματα αυτά η πομαλιδομίδη έλαβε έγκριση από τον FDA και τον EMA για τη θεραπεία αρρώστων που έχουν λάβει τουλάχιστον 2 γραμμές θεραπείας, που περιελάμβαναν λεναλιδομίδη και βορτεζομίμπη και εμφανίζουν επιδείνωση της νόσου. Αντίστοιχα στη μελέτη φάσης 2 σε αρρώστους με ΠΜ ανθεκτικό στην τελευταία γραμμή θεραπείας (διάμεσος αριθμός 5 προηγούμενων θεραπειών), ανθεκτικών κατά κύριο λόγο τόσο στη βορτεζομίμπη όσο και στη λεναλιδομίδη και τη θαλιδομίδη (μελέτη 003-A1), η χορήγηση μονοθεραπείας με καρφιλζομίμπη (σε δόση

Πίνακας 1. Θεραπευτικά σχήματα με 3 παράγοντες για αρρώστους με 1-3 γραμμές θεραπείας με βάση την προηγούμενη ανοχή σε Bortezomib ή Lenalidomide.

		KRd ³⁵	Kd ⁴⁴	Elo-Rd ³⁷	IRd ³⁶	DRd ³⁸	DVd ³⁹	Pano-VD ⁴²
Bortezomib	Έκθεση	+	+	+	+	+	+	+
	Ανοχή	+	-	+	-	+	-	-
Lenalidomide	Έκθεση	+	+	+	+	+	+	+
	Ανοχή	-	+	-	-	-	+	+

Έκθεση: προηγούμενη ανταπόκριση και υποτροπή >2-6 μήνες μετά το πέρας της θεραπείας

Ανοχή: επιδείνωση της νόσου υπό θεραπεία ή απουσία ανταπόκρισης ή υποτροπή σε <60 μέρες από το πέρας της θεραπείας

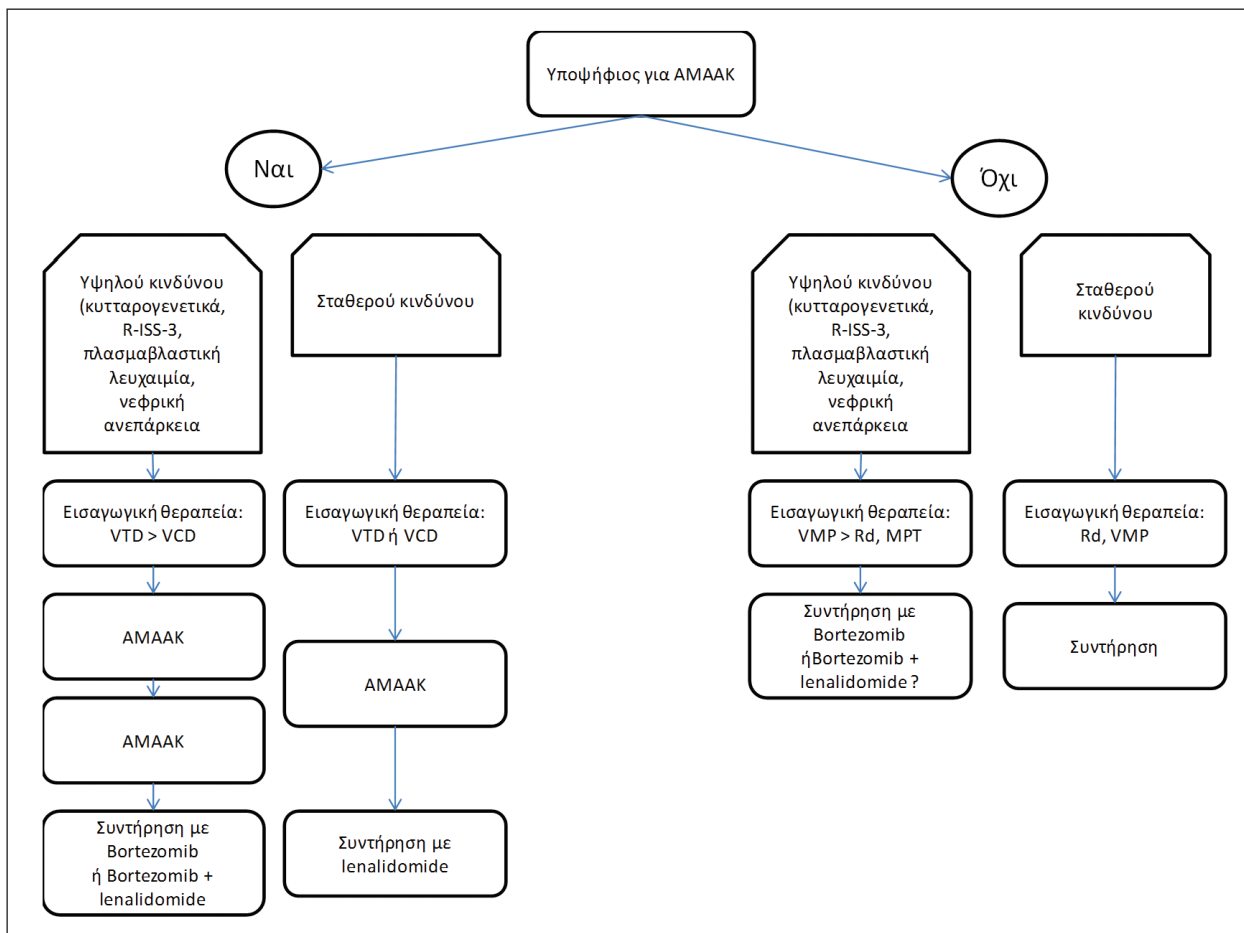
Ο πίνακας έγινε με βάση τα κριτήρια αποκλεισμού των αντίστοιχων μελετών. Δεν έχουν εγκριθεί όλες οι παραπάνω θεραπείες από τον EMA

20/27 mg/m²) ήταν αποτελεσματική, επιτυγχάνοντας μερική ύφεση σε 24% των αρρώστων, διάμεσο διάστημα μέχρι επιδείνωση της νόσου 3.7 μήνες και συνολική επιβίωση 15.6 μήνες⁴⁷. Στη μελέτη FOCUS όπου άρρωστοι με υποτροπιάζον και ανθεκτικό ΠΜ, που είχαν λάβει κατά μέσο όρο 5 θεραπείες και είχαν προηγούμενη έκθεση ή και αντοχή σε λεναλιδομίδη και βορτεζομίμη, έλαβαν μονοθεραπεία με καρφιλοζομίμη (σε δόση 20/27 mg/m²), 19% πέτυχαν τουλάχιστον μερική ύφεση, το διάμεσο διάστημα μέχρι επιδείνωση της νόσου ήταν 3.7 μήνες ενώ η συνολική επιβίωση 10.2 μήνες⁴⁸.

Στη μελέτη SIRIUS⁴⁹ χορηγήθηκε μονοθεραπεία με δαρατουμουμάμη σε αρρώστους που είχαν λάβει τουλάχιστον τρεις προηγούμενες γραμμές θεραπείας, που περιελάμβαναν έναν αναστολέα πρωτεασώματος και ένα IMiD ή είχαν νόσο με αντοχή και στα δυο στην πιο πρόσφατη γραμμή θεραπείας. Συνολικά 29% των αρρώστων εμφάνισε ανταπόκριση της νόσου περιλαμβανομένων και πλήρων και πολύ καλών

μερικών υφέσεων (~13%). Η διάμεση διάρκεια της ανταπόκρισης ήταν 7.4 μήνες, η επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου ήταν 3.7 μήνες και η διάμεση συνολική επιβίωση ήταν 17.5 μήνες. Με βάση τα ανωτέρω αποτελέσματα η δαρατουμουμάμη έλαβε έγκριση από τον FDA για τη θεραπεία αρρώστων με ΠΜ που έχουν λάβει τουλάχιστον τρεις προηγούμενες γραμμές της θεραπείας με αναστολέα πρωτεασώματος και IMiD ή οι οποίοι είναι ανθεκτικοί σε ένα αναστολέα πρωτεασώματος και ένα IMiD.

Στη μελέτη PANORAMA-2⁵⁰, η πανομπινοστάτη χορηγήθηκε σε συνδυασμό με βορτεζομίμη και δεξαμεθαζόνη σε αρρώστους με ανθεκτικό και υποτροπιάζον ΠΜ, που είχαν λάβει τουλάχιστον 2 γραμμές θεραπείας (διάμεσος 4 γραμμές) και είχαν νόσο ανθεκτική στη βορτεζομίμη. Στη μελέτη αυτή φάσης 2 εντάχθηκαν 55 αρρώστοι και 34.5% πέτυχαν μερική ύφεση με διάμεσο χρόνο μέχρι την επιδείνωση τη νόσου 5.4 μήνες. Με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης PANORAMA-2 και της PANORAMA-1⁴² ο



Εικόνα 1. Αδρός θεραπευτικός αλγόριθμος για την αρχική θεραπεία αρρώστων με ΠΜ.

συνδυασμός έλαβε έγκριση από τον FDA και EMA για τη θεραπεία αρρώστων με ΠΜ σε υποτροπή που έχουν λάβει τουλάχιστον 2 γραμμές θεραπείας που περιέλαβαν τουλάχιστον βορτεζομίμπη και ένα IMiD.

Συμπεράσματα

Η εικόνα 1 συνοψίζει μια στρατηγική αντιμετώπισης με βάση τις εγκεκριμένες θεραπείες από τον EMA για αρρώστους με ΠΜ τόσο την αρχική διάγνωση όσο και στην υποτροπή, με βάση τα αποτελέσματα των πιο πρόσφατων μελετών. Η βέλτιστη ακολουθία θεραπειών δεν είναι εύκολο να καθοριστεί και απαιτεί μεγάλες, μακροχρόνιες και καλά σχεδιασμένες κλινικές μελέτες. Τέλος, ένα καθοριστικός παράγοντας που αφορά τόσο το παρόν όσο και το μέλλον της αντιμετώπισης του ΠΜ έχει να κάνει με το κόστος των θεραπειών. Στα επόμενα 1-2 έτη αναμένονται τα αποτελέσματα μελετών που θα ωθήσουν τους νεώτερους παράγοντες να ενταθούν στη θεραπεία του ΠΜ νωρίτερα, πιθανόν στην αρχική αντιμετώπιση της νόσου. Αυτή η εξέλιξη αφορά κυρίως τους νεώτερους αναστολείς πρωτεασώματος (καρφιλζομίμπη, ιξαζομίμπη) και την ανοσοθεραπεία με δαρατουμουμάμπη και ίσως ελοτουζουμάμπη. Είναι πιθανόν με συνδυασμούς αναστολέων πρωτεασώματος, IMiD και κορτικοειδών σε χαμηλή δόση, μαζί με ανοσοθεραπεία να επιτυγχάνονται πρωτοφανή ποσοστά πλήρων υφέσεων και αρνητικής ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου. Επίσης το είδος, η διάρκεια και τα σχήματα των θεραπειών συντήρησης μετά από AMAAK είναι πολύ πιθανόν να τροποποιηθούν με προσθήκη αναστολέων πρωτεασώματος από του στόματος (όπως η ιξαζομίμπη) καθώς και τη χορήγηση ανοσοθεραπείας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2014;15:e538-48.
2. Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S, Lokhorst HM, Goldschmidt H, Rosinol L, et al. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol*. 2015;33:2863-9.
3. Kumar S, Flinn I, Richardson PG, Hari P, Callander N, Noga SJ, et al. Randomized, multicenter, phase 2 study (EVOLUTION) of combinations of bortezomib, dexamethasone, cyclophosphamide, and lenalidomide in previously untreated multiple myeloma. *Blood*. 2012;119:4375-82.
4. Ludwig H, Viterbo L, Greil R, Masszi T, Spicka I, Shpilberg O, et al. Randomized phase II study of bortezomib, thalidomide, and dexamethasone with or without cyclophosphamide as induction therapy in previously untreated multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2013;31:247-55.
5. Ludwig H, Greil R, Masszi T, Spicka I, Shpilberg O, Hajek R, et al. Bortezomib, thalidomide and dexamethasone, with or without cyclophosphamide, for patients with previously untreated multiple myeloma: 5-year follow-up. *Br J Haematol*. 2015;171:344-54.
6. Cavo M, Pantani L, Pezzi A, Petrucci MT, Patriarca F, Di Raimondo F, et al. Bortezomib-thalidomide-dexamethasone (VTD) is superior to bortezomib-cyclophosphamide-dexamethasone (VCD) as induction therapy prior to autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Leukemia*. 2015;29:2429-31.
7. Moreau P, Mary JY, Attal M. Bortezomib-thalidomide-dexamethasone versus bortezomib-cyclophosphamide-dexamethasone as induction therapy prior to autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2015;168:605-6.
8. Moreau P, Hulin C, Macro M, Caillot D, Chateleix C, Roussel M, et al. VTD is superior to VCD prior to intensive therapy in multiple myeloma: results of the prospective IFM2013-04 trial. *Blood*. 2016;127:2569-74.
9. Mai EK, Bertsch U, Durig J, Kunz C, Haenel M, Blau IW, et al. Phase III trial of bortezomib, cyclophosphamide and dexamethasone (VCD) versus bortezomib, doxorubicin and dexamethasone (PAd) in newly diagnosed myeloma. *Leukemia*. 2015;29:1721-9.
10. Attal M, Lauwers-Cances V, Hulin C, Facon T, Caillot D, Escoffre M, et al. Autologous Transplantation for Multiple Myeloma in the Era of New Drugs: A Phase III Study of the Intergroupe Francophone Du Myelome (IFM/DFCI 2009 Trial). *Blood*. 2015;126:391-.
11. Palumbo A, Cavallo F, Gay F, Di Raimondo F, Ben Yehuda D, Petrucci MT, et al. Autologous transplantation and maintenance therapy in multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2014;371:895-905.
12. Gay F, Oliva S, Petrucci MT, Conticello C, Catalano L, Corradini P, et al. Chemotherapy plus lenalidomide versus autologous transplantation, followed by lenalidomide plus prednisone versus lenalidomide maintenance, in patients with multiple myeloma: a randomised, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16:1617-29.
13. Cavo M, Palumbo A, Zweegman S, Dimopoulos MA, Hajek R, Pantani L, et al. Upfront autologous stem cell transplantation (ASCT) versus novel agent-based therapy for multiple myeloma (MM): A randomized phase 3 study of the European Myeloma Network (EMN02/HO95 MM trial). *ASCO Meeting Abstracts*. 2016 May 31, 2016;34(15_suppl):8000.
14. Sonneveld P, Schmidt-Wolf IG, van der Holt B, El Jarari L, Bertsch U, Salwender H, et al. Bortezomib induction and maintenance treatment in patients with newly diagnosed multiple myeloma: results of the randomized phase III HOVON-65/ GMMG-HD4 trial. *J Clin Oncol*. 2012;30:2946-55.
15. Cavo M, Salwender H, Rosiñol L, Moreau P, Petrucci

- MT, Blau IW, et al. Double Vs Single Autologous Stem Cell Transplantation After Bortezomib-Based Induction Regimens For Multiple Myeloma: An Integrated Analysis Of Patient-Level Data From Phase European III Studies. *Blood*. 2013;122:767-.
16. Terpos E, Christoulas D, Kastritis E, Roussou M, Migkou M, Eleutherakis-Papaikovou E, et al. VTD consolidation, without bisphosphonates, reduces bone resorption and is associated with a very low incidence of skeletal-related events in myeloma patients post ASCT. *Leukemia*. 2014;28:928-34.
 17. Attal M, Lauwers-Cances V, Marit G, Caillot D, Moreau P, Facon T, et al. Lenalidomide maintenance after stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2012;366:1782-91.
 18. McCarthy PL, Owzar K, Hofmeister CC, Hurd DD, Hassoun H, Richardson PG, et al. Lenalidomide after stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2012;366:1770-81.
 19. Attal M, Palumbo A, Holstein SA, Lauwers-Cances V, Petrucci MT, Richardson PG, et al. Lenalidomide (LEN) maintenance (MNTC) after high-dose melphalan and autologous stem cell transplant (ASCT) in multiple myeloma (MM): A meta-analysis (MA) of overall survival (OS). *ASCO Meeting Abstracts*. 2016 May 31, 2016;34(15_suppl):8001.
 20. Benboubker L, Dimopoulos MA, Dispenzieri A, Catalano J, Belch AR, Cavo M, et al. Lenalidomide and dexamethasone in transplant-ineligible patients with myeloma. *N Engl J Med*. 2014;371:906-17.
 21. Bringhen S, Larocca A, Rossi D, Cavalli M, Genuardi M, Ria R, et al. Efficacy and safety of once-weekly bortezomib in multiple myeloma patients. *Blood*. 2010;116:4745-53.
 22. Dimopoulos MA, Roussou M, Gkotzamanidou M, Nikitas N, Psimenou E, Mparmparoussi D, et al. The role of novel agents on the reversibility of renal impairment in newly diagnosed symptomatic patients with multiple myeloma. *Leukemia*. 2013;27:423-9.
 23. Palumbo A, Bringhen S, Mateos MV, Larocca A, Facon T, Kumar SK, et al. Geriatric assessment predicts survival and toxicities in elderly myeloma patients: an International Myeloma Working Group report. *Blood*. 2015;125:2068-74.
 24. Bringhen S, Mateos MV, Zweegman S, Larocca A, Falcone AP, Oriol A, et al. Age and organ damage correlate with poor survival in myeloma patients: meta-analysis of 1435 individual patient data from 4 randomized trials. *Haematologica*. 2013;98:980-7.
 25. Niesvizky R, Flinn IW, Rifkin R, Gabrail N, Charu V, Clowney B, et al. Community-Based Phase IIIB Trial of Three UPFRONT Bortezomib-Based Myeloma Regimens. *J Clin Oncol*. 2015;33:3921-9.
 26. Magarotto V, Bringhen S, Offidani M, Benevolo G, Patriarca F, Mina R, et al. Triplet vs doublet lenalidomide-containing regimens for the treatment of elderly patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood*. 2016;127:1102-8.
 27. Dimopoulos MA, Sonneveld P, Leung N, Merlini G, Ludwig H, Kastritis E, et al. International Myeloma Working Group Recommendations for the Diagnosis and Management of Myeloma-Related Renal Impairment. *J Clin Oncol*. 2016;34:1544-57.
 28. Dimopoulos MA, Cheung MC, Roussel M, Liu T, Gamberi B, Kolb B, et al. Impact of renal impairment on outcomes with lenalidomide and dexamethasone treatment in the FIRST trial, a randomized, open-label phase 3 trial in transplant-ineligible patients with multiple myeloma. *Haematologica*. 2016;101:363-70.
 29. Dimopoulos MA, Roussou M, Gavriatopoulou M, Psimenou E, Eleutherakis-Papaikovou E, Migkou M, et al. Bortezomib-based triplets are associated with a high probability of dialysis independence and rapid renal recovery in newly diagnosed myeloma patients with severe renal failure or those requiring dialysis. *Am J Hematol*. 2016;91:499-502.
 30. Cook M, Hutchison C, Fifer L, Gillmore J, Heyne N, Weisel K, et al. High Cut-Off Haemodialysis (HCO-HD) does not improve outcomes in myeloma cast nephropathy: Results of European Trial of Free Light Chain Removal by Extended Haemodialysis in Cast Nephropathy (EULITE). *EHA 2016*; p. P270.
 31. Badros AZ, Vij R, Martin T, Zonder JA, Kunkel L, Wang Z, et al. Carfilzomib in multiple myeloma patients with renal impairment: pharmacokinetics and safety. *Leukemia*. 2013;27:1707-14.
 32. Matous JS, Da; Lonial, S et al. MM-008: a phase 1 trial evaluating pharmacokinetics and tolerability of Pomalidomide + low-dose dexamethasone in patients with relapsed or refractory and refractory multiple and renal impairment. *Blood (Meeting Abstracts)*. 2014;124(Abstr 4730).
 33. Gupta N, Hanley MJ, Harvey RD, Badros A, Lipe B, Kukreti V, et al. A pharmacokinetics and safety phase 1/1b study of oral ixazomib in patients with multiple myeloma and severe renal impairment or end-stage renal disease requiring haemodialysis. *Br J Haematol*. 2016;174:748-59.
 34. Royer B, Minvielle S, Diouf M, Roussel M, Karlin L, Hulin C, et al. Bortezomib, Doxorubicin, Cyclophosphamide, Dexamethasone Induction Followed by Stem Cell Transplantation for Primary Plasma Cell Leukemia: A Prospective Phase II Study of the Intergroupe Franco-phone du Myelome. *J Clin Oncol*. 2016;34:2125-32.
 35. Stewart AK, Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Masszi T, Spicka I, Oriol A, et al. Carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2015;372:142-52.
 36. Moreau P, Masszi T, Grzasko N, Bahlis NJ, Hansson M, Pour L, et al. Oral Ixazomib, Lenalidomide, and Dexamethasone for Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2016;374:1621-34.
 37. Lonial S, Dimopoulos M, Palumbo A, White D, Grosicki S, Spicka I, et al. Elotuzumab Therapy for Relapsed or Re-

- fractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med.* 2015;373:621-31.
38. Dimopoulos M, Oriol A, Nahi H, San Miguel J, Bahlis N, Rabin J, et al. An open-label, randomised Phase 3 study of daratumumab, lenalidomide and dexamethasone (DRD) versus lenalidomide and dexamethasone (RD) in relapsed or refractory multiple myeloma (RRMM): POLLUX EHA Annual Meeting, 9-12 June 2016. p. Abstract LB2238.
 39. Palumbo A, Chanan-Khan A, Weisel K, Nooka A, Masszi T, Beksac M, et al. Phase III randomized controlled study of daratumumab, bortezomib, and dexamethasone (DvD) versus bortezomib and dexamethasone (Vd) in patients (pts) with relapsed or refractory multiple myeloma (RRMM): CASTOR study. 2016 ASCO Annual Meeting June 3-7, 2016, 2016. p. LBA4.
 40. Jakubowiak A, Offidani M, Pegourie B, De La Rubia J, Garderet L, Laribi K, et al. Randomized phase 2 study: elotuzumab plus bortezomib/dexamethasone vs bortezomib/dexamethasone for relapsed/refractory MM. *Blood.* 2016;127:2833-40.
 41. Dimopoulos M, Siegel DS, Lonial S, Qi J, Hajek R, Facon T, et al. Vorinostat or placebo in combination with bortezomib in patients with multiple myeloma (VANTAGE 088): a multicentre, randomised, double-blind study. *Lancet Oncol.* 2013;14:1129-40.
 42. San-Miguel JF, Hungria VT, Yoon SS, Beksac M, Dimopoulos MA, Elghandour A, et al. Panobinostat plus bortezomib and dexamethasone versus placebo plus bortezomib and dexamethasone in patients with relapsed or relapsed and refractory multiple myeloma: a multicentre, randomised, double-blind phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014;15:1195-206.
 43. Richardson PG, Hungria VT, Yoon SS, Beksac M, Dimopoulos MA, Elghandour A, et al. Panobinostat plus bortezomib and dexamethasone in previously treated multiple myeloma: outcomes by prior treatment. *Blood.* 2016;127:713-21.
 44. Dimopoulos MA, Moreau P, Palumbo A, Joshua D, Pour L, Hajek R, et al. Carfilzomib and dexamethasone versus bortezomib and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma (ENDEAVOR): a randomised, phase 3, open-label, multicentre study. *Lancet Oncol.* 2016;17:27-38.
 45. San Miguel J, Weisel K, Moreau P, Lacy M, Song K, Delforge M, et al. Pomalidomide plus low-dose dexamethasone versus high-dose dexamethasone alone for patients with relapsed and refractory multiple myeloma (MM-003): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2013;14:1055-66.
 46. Dimopoulos MA, Palumbo A, Corradini P, Cavo M, Delforge M, Di Raimondo F, et al. Safety and efficacy of pomalidomide plus low-dose dexamethasone in STRATUS (MM-010): a phase 3b study in refractory multiple myeloma. *Blood.* 2016;128:497-503.
 47. Siegel DS, Martin T, Wang M, Vij R, Jakubowiak AJ, Lonial S, et al. A phase 2 study of single-agent carfilzomib (PX-171-003-A1) in patients with relapsed and refractory multiple myeloma. *Blood.* 2012;120:2817-25.
 48. Hajek R, Masszi T, Petrucci MT, Palumbo A, Rosinol L, Nagler A, et al. A randomized phase III study of carfilzomib vs low-dose corticosteroids with optional cyclophosphamide in relapsed and refractory multiple myeloma (FOCUS). *Leukemia.* 2016.
 49. Lonial S, Weiss BM, Usmani SZ, Singhal S, Chari A, Bahlis NJ, et al. Daratumumab monotherapy in patients with treatment-refractory multiple myeloma (SIRIUS): an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet.* 2016;387:1551-60.
 50. Richardson PG, Schlossman RL, Alsina M, Weber DM, Coutre SE, Gasparetto C, et al. PANORAMA 2: panobinostat in combination with bortezomib and dexamethasone in patients with relapsed and bortezomib-refractory myeloma. *Blood.* 2013;122:2331-7.

Θεραπευτικές Εξελίξεις στα Περιφερικά T-Λεμφώματα

ΜΑΡΙΑ Κ. ΑΓΓΕΛΟΠΟΥΛΟΥ, ΗΛΙΑΝΑ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ, ΘΕΟΔΩΡΟΣ Π. ΒΑΣΙΛΑΚΟΠΟΥΛΟΣ
Αιματολογική Κλινική ΕΚΠΑ, Γ.Ν. “Λαϊκό”, Αθήνα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα περιφερικά T- λεμφώματα (ΠΤΛ) προέρχονται από ώριμα T-λεμφοκύτταρα και συγκροτούν μια εξαιρετικά ετερογενή κατηγορία νοσημάτων. Με βάση την κλινική εικόνα και την εντόπιση κατατάσσονται σε 3 βασικές υποκατηγορίες: τα εξωλεμφαδενικά, τα λευχαιμικά και τα λεμφαδενικά. Αντικείμενο της παρούσας ανασκόπησης είναι τα λεμφαδενικά περιφερικά T-λεμφώματα (Λ-ΠΤΛ), που περιλαμβάνουν το ALK+ συστηματικό αναπλαστικό λέμφωμα (ALK+sALCL), το ALK- συστηματικό αναπλαστικό λέμφωμα (ALK-sALCL), το αγγειοανοσοβλαστικό T λέμφωμα (AITL) και το περιφερικό T λέμφωμα μη ειδικού τύπου (PT-CL-NOS). Τα Λ-ΠΤΛ χαρακτηρίζονται από δυσμενή πρόγνωση με 5-ετή επιβίωση χωρίς εξέλιξη νόσου (PFS) και συνολική επιβίωση (OS) 25-38% και 30-45% αντίστοιχα. Από την πλειονότητα της ιατρικής κοινότητας ως αρχική θεραπεία έχει υιοθετηθεί η στρατηγική που εφαρμόζεται στα επιθετικά B-λεμφώματα δηλαδή χημειοθεραπεία περιέχουσα ανθρακυκλίνη, όπως το σχήμα CHOP. Η προσθήκη ετοποσιδης στον κλασικό συνδυασμό CHOP φαίνεται να ευνοεί τους ασθενείς κάτω των 60 ετών και ιδιαίτερα εκείνους με ALK+sALCL. Η αυτόλογη μεταμόσχευση (ASCT) χρησιμοποιείται είτε ως θεραπεία εδραίωσης μετά την επίτευξη 1^{ης} πλήρους ύφεσης ή στην υποτροπή μετά την εφαρμογή θεραπείας διάσωσης ενώ η αλλογενής μεταμόσχευση (allo-SCT) αποτελεί επιλογή συνήθως μετά την αποτυχία της ASCT. Νεώτεροι παράγοντες διερευνώνται κατά κανόνα σε υποτροπιάσαντες ή ανθεκτικούς ασθενείς, από τους οποίους οι πιο δραστηκοί μετακινούνται στην πρώτη γραμμή, κυρίως σε συνδυασμούς. Σε αυτούς περιλαμβάνονται ανάλογα

νουκλεοσιδίων, με κύριο εκπρόσωπο τη γεμισταβίνη, αντιμεταβολίτες όπως η plaratrexate, αναστολείς της αποακετυλάσης των ιστονών όπως η ρομιδεψίνη και το belinostat. Ανάμεσα στα νεότερα φάρμακα ξεχωρίζει το Brentuximab Vedotin (BV) που αποτελεί σύζευγμα αντι-CD30 και αντινεοπλασματικού παράγοντα που όπως φαίνεται έχει επιφέρει επανάσταση στην πρόγνωση των sALCL, ειδικά των ALK-. Η πρόοδος στην κατανόηση της βιολογίας των ΠΤΛ, έχει εντοπίσει βιολογικές υποκατηγορίες που χαρακτηρίζονται από την ενεργοποίηση ενδοκυττάρων μονοπατιών προσφέροντας έτσι νέους πιθανούς θεραπευτικούς στόχους. Ωστόσο παρά την πληθώρα νέων θεραπευτικών παραγόντων, η φυσική ιστορία και η πρόγνωση των ΠΤΛ δεν έχουν βελτιωθεί σημαντικά. Μόνο η κατανόηση της βιολογικής ετερογένειας των νοσημάτων αυτών μπορεί να καταστήσει δυνατή την επιτυχέστερη αντιμετώπιση τους. Ενδεχομένως πολλαπλές οδοί συμμετέχουν στην παθογένεια των οντοτήτων αυτών, έτσι ώστε η κλινική έρευνα να πρέπει να κατευθυνθεί σε συνδυασμό βιολογικών παραγόντων και χημειοθεραπευτικών.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα περιφερικά T- λεμφώματα (ΠΤΛ) αφορούν λεμφώματα προερχόμενα από ώριμα T-λεμφοκύτταρα και συγκροτούν μια εξαιρετικά ετερογενή κατηγορία νοσημάτων. Η ταξινόμηση τους σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας¹ βασίζεται σε ένα κλινικοπαθολογικό σύστημα που στηρίζεται στην κλινική εικόνα και την εντόπιση. Αναγνωρίζονται συνολικά 23 επιμέρους οντότητες, οι οποίες κατατάσσονται σε 3 βασικές υποκατηγορίες T-λεμφωμάτων: τα εξω-

λεμφαδενικά (με κύριο εκπρόσωπο τα δερματικά Τ-λεμφώματα), τα λευχαιμικά και τα λεμφαδενικά. Αντικείμενο της παρούσας ανασκόπησης είναι τα λεμφαδενικά περιφερικά Τ-λεμφώματα (Λ-ΠΤΛ), που απαντώνται συχνότερα και περιλαμβάνουν το ALK+ συστηματικό αναπλαστικό λέμφωμα από μεγάλα κύτταρα (ALK+ sALCL), το ALK- συστηματικό αναπλαστικό λέμφωμα από μεγάλα κύτταρα (ALK- sALCL), το αγγειοανοσοβλαστικό Τ λέμφωμα (AITL) και το περιφερικό Τ λέμφωμα μη ειδικού τύπου (PTCL-NOS).

Κατά τη διάγνωση, τα Λ-ΠΤΛ χαρακτηρίζονται από δυσμενές προγνωστικό προφίλ, όπως προχωρημένο κλινικό στάδιο, εξωλεμφαδενική συμμετοχή, αυξημένη LDH, Β-συμπτωματολογία, διήθηση του μυελού των οστών, επηρεασμένη φυσική κατάσταση ικανότητας και αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο² (πίνακας 1).

Σε αντίθεση με άλλες ομάδες αιματολογικών κακοηθειών, ελάχιστη πρόοδος έχει επιτευχθεί στη θεραπεία των Λ-ΠΤΛ.

Κυτταροτοξική χημειοθεραπεία

Λόγω της σπανιότητας των οντοτήτων αυτών, δεν υπάρχουν δεδομένα προερχόμενα από τυχαιοποιημένες μελέτες που να καθορίζουν τη βέλτιστη αρχική θεραπεία. Έτσι, έχει υιοθετηθεί η θεραπευτική στρατηγική που εφαρμόζεται στα επιθετικά Β-λεμφώματα.

Ωστόσο, η έκβασή τους είναι σημαντικά δυσμενέστερη σε σύγκριση με τα επιθετικά Β-λεμφώματα με 5-ετή επιβίωση χωρίς εξέλιξη νόσου (PFS) και συνολική επιβίωση (OS) 25-38% και 30-45% αντίστοιχα³⁻¹³. Εξαιρέση αποτελεί το ALK+ sALCL με 5-ετή PFS της τάξης του 60% και OS 70-85%^{2,14,15}.

Εντυπωσιακή είναι η παρατήρηση, μετά από μεγάλη αναδρομική ανάλυση 1320 ασθενών με ΠΤΛ του International T-cell Lymphoma Project, ότι η προσθήκη ανθρακυκλίνης στη θεραπεία πρώτης γραμμής, τελικά ευνοεί μόνο τους ασθενείς με sALCL².

Από την υποανάλυση για τα ΠΤΛ των δύο γνωστών προοπτικών τυχαιοποιημένων μελετών της Γερμανικής Ομάδας Λεμφωμάτων σε ασθενείς με επιθετικό λέμφωμα, προέκυψε η υπεροχή της προσθήκης της ετοποσιδής στο συνδυασμό CHOP (CHOEP) έναντι του κλασσικού CHOP για τους ασθενείς <60 ετών, με φυσιολογική LDH και ιδιαίτερα για εκείνους με ALK+sALCL¹⁵. Αντίθετα, δεν τεκμηριώθηκε υπεροχή του συνδυασμού CHOP κάθε 14 ημέρες (CHOP-14) έναντι του κλασσικού CHOP (CHOP-21) για ασθενείς ηλικίας >60 ετών¹⁵. Η υπεροχή της προσθήκης της ετοποσιδής επιβεβαιώθηκε και από 2 πιο πρόσφατες μελέτες μητρώου (registry studies), προερχόμενες από τη Σουηδία¹⁴ και την Τσεχία¹⁶.

Η χρήση πιο εντατικοποιημένων χημειοθεραπευτικών συνδυασμών, όπως το ACVBP¹⁷ της GELA που

Πίνακας 1. Κλινικά χαρακτηριστικά και έκβαση των ιστολογικών τύπων των λεμφαδενικών περιφερικών Τ-λεμφωμάτων.^{2,14,15}

	sALCL ALK+	sALCL ALK-	PTCL-NOS	AITL
Διάμεση ηλικία (έτη)	34-41	50-67	54-69	64-70
Άρρεν φύλο (%)	54-63	61 -70	58-70	54-57
Κλινικό στάδιο III/IV (%)	49-65	49-59	53-72	82-89
Β-συμπτώματα	54-75%	35-60%	40-61%	68-75%
Διήθηση μυελού των οστών (%)	9-12	7-13	22	29 -36
IPI (%) (χαμηλός//ενδιάμεσος// υψηλός)	49-58/37-40/3-14	32-57/ 36-44/7-23	16-46/ 40-57/14-23	4-21/54-65/25-28
Κλινικά χαρακτηριστικά/ Εντοπίσεις νόσου	Υποδόριο Οστά	Δέρμα Ήπαρ Γαστρεντερικό σύστημα	Δέρμα	AAA Υπεργαμμασφαιριναιμία Δερματικό εξάνθημα Ηπατοσπληνομεγαλία Πλευριτική/ασκιτική συλλογή
5-ετής PFS/FFS/EFS (%)	60-75	31-38	20-35	18-28
5-ετής OS (%)	70-88	38-55	32-48	32-45

ALK: κίνηση του αναπλαστικού λεμφώματος, sALCL ALK+: ALK+ συστηματικό αναπλαστικό λέμφωμα από μεγάλα κύτταρα, sALCL ALK-: ALK- συστηματικό αναπλαστικό λέμφωμα από μεγάλα κύτταρα, PTCL-NOS: περιφερικό Τ λέμφωμα μη ειδικού τύπου, AITL: αγγειοανοσοβλαστικό Τ λέμφωμα, IPI (International Prognostic Index): Διεθνής Προγνωστικός Δείκτης, AAA: αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, PFS (Progression Free Survival): επιβίωση χωρίς εξέλιξη νόσου, EFS (Event Free Survival): επιβίωση ελεύθερη συμβάματος, FFS (Failure Free Survival): επιβίωση ελεύθερη αποτυχίας της θεραπείας, OS (Overall Survival): συνολική επιβίωση.

χρησιμοποιεί αυξημένες δόσεις ανθρακυκλίνης, καθώς και σχήματα με πολλαπλά χημειοθεραπευτικά, συμπεριλαμβανομένων της μεθοτρεξάτης, της ετοποσίδης και της ιφωσφαμίδης, όπως τα mBACOD¹⁷, MINE¹², ESHAP¹⁸, δεν φαίνεται να υπερτερούν. Η μοναδική προοπτική τυχαίοποιημένη μελέτη απευθυνόμενη ειδικά στα PTCL-NOS συγκρίνει το συνδυασμό CHOP με ένα εντατικοποιημένο σχήμα (CMED) που περιέχει μεθοτρεξάτη, υψηλές δόσεις κυκλοφωσφαμίδης, ετοποσίδη και δεξαμεθαζόνη σε 227 ασθενείς με πρωτοδιαγνωσθέν PTCL-NOS¹⁹. Ο συνδυασμός CMED απεδείχθη να υπερτερεί έναντι του κλασσικού CHOP σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Ωστόσο ο συνδυασμός αυτός δεν έχει υιοθετηθεί από τη διεθνή κοινότητα.

Συμπερασματικά το σχήμα CHO(E)P παραμένει η θεραπεία εκλογής στην 1^η γραμμή ειδικά για ορισμένες υποομάδες ασθενών που έχουν ευνοϊκή πρόγνωση και συγκεκριμένα τους ασθενείς με ALK+ ALCL, τους ασθενείς <40 ετών με ALK- sALCL, ενδεχομένως όλους τους ασθενείς με Λ-ΠΤΛ με περιορισμένο κλινικό στάδιο και χαμηλό διεθνή προγνωστικό δείκτη καθώς και την υποομάδα των ασθενών με ALK- sALCL που φέρουν την ευνοϊκής πρόγνωσης αναδιάταξη του γονιδίου DUSP22. Για τους υπολοίπους, που αποτελούν και την πλειονότητα των ασθενών, η αρχική θεραπεία με CHO(E)P οδηγεί σε πιθανότητα μακροχρόνιας ύφεσης <30%.

Μεγαθεραπεία και Αυτόλογη Μεταμόσχευση Αρχέγονων Αιμοποιητικών Κυττάρων

Η αυτόλογη μεταμόσχευση (ASCT) χρησιμοποιείται είτε ως θεραπεία εδραίωσης μετά την επίτευξη 1^{ης} πλήρους ύφεσης ή στην υποτροπή μετά την εφαρμογή θεραπείας διάσωσης.

Στους ασθενείς με ALK+ ALCL, η ASCT δεν προσφέρεται στην 1^η ύφεση καθώς η υποκατηγορία αυτή χαρακτηρίζεται από ευνοϊκή πρόγνωση μετά από αρχική θεραπεία με CHO(E)P. Για τους υπολοίπους, τα δεδομένα για τη θέση της ASCT ως θεραπεία εδραίωσης στην 1^η πλήρη ύφεση είναι αντικρουόμενα και προέρχονται είτε από αναδρομικές²⁰⁻³¹ ή από προοπτικές φάσης II³²⁻³⁷ μελέτες (πίνακες 2 και 3, αντίστοιχα). Από αυτές προκύπτει ότι η επίτευξη πλήρους ύφεσης προ της ASCT είναι ο πλέον σημαντικός προγνωστικός παράγων για επιτυχή έκβαση³⁷. Επιπρόσθετα, εντυπωσιακά υψηλό είναι το ποσοστό των ασθενών που δεν καταφέρνουν να φθάσουν στη μεταμόσχευση (23%-59%) λόγω πρώιμης εξέλιξης της νόσου, με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται ίαση μόνο στο 30-40% του συνόλου των ασθενών³²⁻³⁷. Βέβαια, η έκβαση είναι ικανοποιητική για αυτούς που

ολοκληρώνουν το πρόγραμμα, καθώς >60% των ασθενών αυτών επιτυγχάνουν μακροχρόνιο έλεγχο της νόσου^{32-34,36}. Από την υποανάλυση για τα ΠΤΛ της γερμανικής τυχαίοποιημένης μελέτης MegaCHOEP, δεν προέκυψε πλεονέκτημα για το σκέλος του εντατικοποιημένου CHOEP συνοδευόμενο από ASCT έναντι του συμβατικού CHOEP-14 για τους υψηλού κινδύνου ασθενείς στην 1^η ύφεση¹³. Σε παρεμφερές αποτέλεσμα κατέληξε και η Γαλλική Ομάδα GELA³⁸. Αντίθετα, μελέτη προερχόμενη από τη Σουηδία καταδεικνύει βελτίωση της PFS με την εφαρμογή της ASCT στην 1^η ύφεση¹⁴. Προοπτική τυχαίοποιημένη μελέτη που συνέκρινε την ASCT έναντι της αλλογενούς μεταμόσχευσης (allo-SCT) έκλεισε πρόωρα λόγω αποτυχίας ένταξης ασθενών³⁹. Παρ' όλα αυτά, η ASCT ως θεραπεία εδραίωσης σε νέους υψηλού κινδύνου ασθενείς, που επιτυγχάνουν 1^η πλήρη ύφεση (ΠΥ), είναι μια λογική επιλογή.

Όπως είναι φανερό η πλειονότητα των ασθενών υποτροπιάζει, ενώ ένα σημαντικό ποσοστό εμφανίζει πρωτοπαθώς ανθεκτική νόσο. Η έκβαση των ασθενών αυτών είναι εξαιρετικά πτωχή, χωρίς ουσιαστική πιθανότητα ίασης, τουλάχιστον με συμβατική χημειοθεραπεία. Η θεραπευτική στρατηγική εκλογής περιλαμβάνει θεραπεία διάσωσης με σχήματα περιέχοντα πλατίνα ή gemcitabine, ακολουθούμενη από ASCT στους ανταποκριθέντες. Η χημειοευαισθησία και μάλιστα η επίτευξη ΠΥ είναι ένας εξαιρετικά σημαντικός παράγων για την επιτυχή έκβαση, σε αντίθεση με τους χημειοανθεκτικούς ασθενείς που δεν διασώζονται με την τακτική αυτή^{23,25,29,30}. Για τους ασθενείς κάτω των 65 ετών, με καλή κατάσταση ικανότητας και ανταπόκριση στη θεραπεία 2^{ης} γραμμής, η ASCT μπορεί να επιφέρει μακροχρόνιο έλεγχο της νόσου περίπου στο 25-45%^{20,24,27,29}. Ειδικά για τους χημειοευαίσθητους ασθενείς με sALCL τα ποσοστά ανέρχονται στο 65-100%. Οι καμπύλες επιβίωσης επιπεδώνονται στα 3 έτη, με σπάνιες καθυστερημένες υποτροπές.

Η allo-SCT αποτελεί επιλογή για την υποτροπιάζουσα νόσο, συνήθως μετά από αποτυχία της ASCT σε εξαιρετικά σπάνιες περιπτώσεις ασθενών που είναι νέοι, σε καλή κατάσταση ικανότητας και με χημειοευαίσθητη νόσο. Από τις υπάρχουσες αναδρομικές μελέτες προκύπτει θνητότητα σχετιζόμενη με τη μεταμόσχευση 12-36% και μακροχρόνιος έλεγχος της νόσου 35-50% με επιπέδωση των καμπυλών επιβίωσης στα 2 έτη. Και εδώ, οι χημειοευαίσθητοι ασθενείς έχουν ευνοϊκότερη έκβαση, ενώ η allo-SCT μπορεί να διασώσει 8-30% των χημειοανθεκτικών ασθενών. Πρέπει να σημειωθεί ότι οι ασθενείς αυτοί είναι ιδιαίτερα επιλεγμένοι και η διαδικασία αυτή δεν

Πίνακας 2. Προοπτικές Μελέτες Αυτόλογης Μεταμόσχευσης Αρχέγονων Αιμοποιητικών Κυττάρων στην 1^η ύφεση σε λεμφαδενικά περιφερικά T λεμφώματα.

	Corradini 200632	Reimer 2009 / Wilhelm 201633-34	D'Amore 2012/201435	Rodriguez 2007 36	Mercadal 2008 37
Αριθμός Ασθενών	62 (19 ALK+)	111, ALK-	166, ALK-	26, ALK-	41, ALK-
Διάμεση Ηλικία (έτη)	43	46.5	57	44	47
Χημειοθεραπεία Εφόδου	APO, DHAP, MACOP-B	CHOP, Dexa-BEAM	CHO(E)P	MegaCHOP, IFE	MegaCHOP, ESHAP
Μεγαθεραπεία	HDMTX/Mel HDARA/C/Mito/Mel	TBI/Cy	BEAM	BEAM	BEAM (C)
% Ασθενών που υποβλήθηκαν σε ΜΘ	74%	68%	74%	77%	41%
ΠΥ/ΜΥ προ ASCT (%)	56/16	48/18	49/30	61/16	49/10
OS	34% - 12 έτη	44% - 5 έτη	51/41% - 5/10 έτη	75% - 3έτη	39% - 4 έτη
PFS	30% - 12 έτη	39% - 5 έτη	44/38% - 5/10 έτη	53%	30% - 4 έτη
OS/PFS επί ΜΘ*	-/60%	71%	-	84%/56%	-
Διάμεση Παρακολούθηση (μήνες)	76	45	60.5	24	47

ΜΘ: Μεγαθεραπεία, ΠΥ: Πλήρης Ύφεση, ΜΥ: Μερική Ύφεση, ASCT (Autologous Stem Cell Transplantation): Αυτόλογη Μεταμόσχευση Αρχέγονων Αιμοποιητικών Κυττάρων, OS: Συνολική Επιβίωση, PFS: Επιβίωση Ελεύθερη Επιδείνωσης, *: Συνολική επιβίωση/Επιβίωση ελεύθερη επιδείνωσης για τους ασθενείς που υπεβλήθησαν σε μεγαθεραπεία, ALK: κινάση του αναπλαστικού λεμφώματος, APO: συνδυασμός βινκριστίνης, δοξορουβικίνης και πρεδνιζόνης, CHOP: συνδυασμός κυκλοφωσφαμίδης, δοξορουβικίνης, βινκριστίνης και πρεδνιζολόνης, CHO(E)P: προσθήκη ετοποσιδης στο συνδυασμό CHOP, megaCHOP: συνδυασμός κυκλοφωσφαμίδης, δοξορουβικίνης, βινκριστίνης, ετοποσιδης και δεξαμεθαζόνης, DHAP: Συνδυασμός δεξαμεθαζόνης, υψηλών δόσεων κυταραβίνης και σισπλατίνης, BEAM: συνδυασμός καρμουςτίνης, ετοποσιδης, κυταραβίνης και μελφαλάνης, dexaBEAM: συνδυασμός δεξαμεθαζόνης με BEAM, BEAC: συνδυασμός καρμουςτίνης, ετοποσιδης, κυταραβίνης και κυκλοφωσφαμίδης, HDMTX/Mel: συνδυασμός υψηλών δόσεων μεθοτρεξάτης και μελφαλάνης, HDARA/C/Mito/Mel: συνδυασμός υψηλών δόσεων κυταραβίνης, μιτοξανδρόνης και μελφαλάνης, IFE: συνδυασμός ιφωσφαμίδης και ετοποσιδης, MACOP-B: συνδυασμός μεθοτρεξάτης, δοξορουβικίνης, κυκλοφωσφαμίδης, βινκριστίνης, πρεδνιζόνης και μπλεομυκίνης, TBI/Cy: συνδυασμός κυκλοφωσφαμίδης με ολοσωματική ακτινοθεραπεία (Total Body Irradiation).

μπορεί να εφαρμοσθεί στην κλινική πράξη για τη συντριπτική πλειοψηφία τους.

Νεώτερα φάρμακα

Οι παράγοντες αυτοί έχουν χρησιμοποιηθεί κατά κανόνα σε υποτροπιάσαντες ή ανθεκτικούς ασθενείς, οι πιο δραστικοί εξ' αυτών δε, μετακινούνται στην πρώτη γραμμή, κυρίως σε συνδυασμούς.

Ανάλογα νουκλεοσιδίων

Η γεμισαβίνη (gemcitabine), είναι ένα ανάλογο της κυταραβίνης και αποτελεί τον κατεξοχήν αποτελεσματικό παράγοντα της κατηγορίας αυτής. Ως μονοθεραπεία, επιτυγχάνει ανταποκρίσεις της τάξεως του 60% και πλήρεις υφέσεις 30%⁴⁵. Συνδυασμοί της γεμισαβίνης με cis-platinum και κορτικοειδή, όπως οι GEMP⁴⁶ και GDP⁴⁷, είναι κατάλληλοι για διάσωση και κινητοποίηση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων, με ανταποκρίσεις της τάξεως του 50% στο σύνολο των ασθενών με

ΠΤΛ. Ωστόσο, τα ποσοστά των ΠΥ είναι χαμηλά και η διάρκεια των ανταποκρίσεων βραχεία για την πλειονότητα των ασθενών. Τρέχουσα τυχαιοποιημένη μελέτη από τη Βρετανία εξετάζει την αποτελεσματικότητα του συνδυασμού GEMP σε σύγκριση με το CHOP στην 1η γραμμή θεραπείας (NCT01719835).

Η βενδαμουστίνη (bendamustine) είναι χημειοθεραπευτικό που συνδυάζει ιδιότητες αλκυλιούντος παράγοντος και αναλόγου νουκλεοσιδίου. Η μελέτη BENTLY περιελάμβανε τη χορήγηση bendamustine σε δόση 120mg/m² για 2 ημέρες ανά 3 εβδομάδες σε 60 ασθενείς με Λ-ΠΤΛ (PTCL-NOS και AITL). Η συνολική ανταπόκριση ήταν 49% και το ποσοστό ΠΥ 29% με εξαιρετικά βραχεία διάρκεια (3.5 μήνες)⁴⁸. Έτσι η bendamustine έχει μάλλον περιορισμένη αποτελεσματικότητα στα Λ-ΠΤΛ.

Αντιμεταβολίτες

Η plaratrexate ομοιάζει στη δομή και το μηχανισμό δράσης με τη μεθοτρεξάτη, αναστέλλοντας την

Πίνακας 3. Αναδρομικές Μελέτες Αυτόλογης Μεταμόσχευσης Αρχέγονων Αιμοποιητικών Κυττάρων σε λεμφαδενικά περιφερικά Τ λεμφώματα.

Συγγραφέας	Αριθμός Ασθενών	Ιστολογικοί Τύποι	Κατάσταση Νόσου	5-ετής OS (%)	5-ετής PFS/EFS (%)
Vose 1990 ²⁰	17	Πολλαπλοί	100% ανθεκτικά/σε υποτροπή χημειοευαίσθητα: 21%, χημειοανθεκτικά: 10%	3-ετής: 35	3-ετής: 28
Fanin 1999 ²¹	64	ALCL	23%: 1 ^η ΠΥ, 28%: 1 ^η ΜΥ, χημειοανθεκτικά: 40%	70	56
Blystad 2001 ²²	40	PTCL-NOS: 50% ALCL: 35% AITL: 5%	28% 1 ^η ΠΥ 100% χημειοευαίσθητα	58	48
Jantunen 2004 ²³	37	PTCL-NOS: 38% ALCL: 30%	1 ^η ΠΥ/ΜΥ: 49% 87% χημειοευαίσθητα	54	44
Song 2003 ²⁴	36	PTCL-NOS: 56% ALCL: 40% AITL: 5%	100% ανθεκτικά/σε υποτροπή 92% χημειοευαίσθητα	48	37
Angelopoulou 2003 ²⁵	35	PTCL-NOS: 69% ALCL: 29%	14% 1 ^η ΠΥ 75% χημειοευαίσθητα	33	26
Schetelig 2003 ²⁶	29	AITL	48% 1 ^η ΠΥ, 60% χημειοευαίσθητα	44	37
Kewalramani 2006 ²⁷	24	PTCL-NOS: 58% ALCL ALK-: 17% AITL: 17%	100% ανθεκτικά/σε υποτροπή 100% χημειοευαίσθητα (63%: 2 ^η ΠΥ)	24	33
Rodriguez 2007 (GELTAMO) ²⁸	123	PTCL-NOS: 57% ALCL: 25% AITL: 8%	100% ανθεκτικά/σε υποτροπή 1 ^η ΜΥ: 36%, χημειοευαίσθητα: 52%, χημειοανθεκτικά: 9%	45	34
Yang DH 2009 ³¹	64	PTCL-NOS	1 ^η ΠΥ: 25%, 1 ^η ΜΥ: 19% χημειοευαίσθητα/σε υποτροπή: 47%, χημειοανθεκτικά: 9%	3-ετής: 53	3-ετής: 44

OS (Overall Survival): συνολική επιβίωση, PFS (Progression Free Survival): επιβίωση χωρίς εξέλιξη νόσου, EFS (Event Free Survival): επιβίωση ελεύθερη συμβάματος, ALK: κινάση του αναπλαστικού λεμφώματος, ALCL: συστηματικό αναπλαστικό λέμφωμα από μεγάλα κύτταρα, PTCL-NOS: περιφερικό Τ λέμφωμα μη ειδικού τύπου, AITL: αγγειοανοσοβλαστικό Τ λέμφωμα, ΠΥ: πλήρης ύφεση, ΜΥ: μερική ύφεση.

διϋδροφολική ρεδουκτάση, αλλά επιτυγχάνει πολύ υψηλότερη συγκέντρωση ενδοκυτταρίως. Ο Εθνικός Οργανισμός Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) ενέκρινε τη χρήση του φαρμάκου για τους ασθενείς με ανθεκτικά ή σε υποτροπή ΠΤΛ το Σεπτέμβριο του 2011, βασιζόμενος στα δεδομένα της μελέτης PROPEL⁴⁹. Σε αυτή συμμετείχαν 111 ασθενείς (53% PTCL-NOS, 15% ALCL, 12% AITL) εκ των οποίων το 63% ήταν ανθεκτικοί στην αμέσως προηγούμενη χημειοθεραπεία. Η δόση του φαρμάκου ήταν 30mg/m²/εβδομάδα x 6 εβδομάδες, με ανάπαυλα μίας εβδομάδας (κύκλος 7 εβδομάδων), με προφυλακτική χορήγηση φυλικού οξέος και βιταμίνης Β12. Η συνολική ανταπόκριση ήταν 29% με 11% ΠΥ. Η διάμεση PFS ήταν βραχεία (3.5 μήνες), όμως η διάμεση διάρκεια της ανταπόκρισης ήταν 10.5 μήνες. Παρατηρήθηκε υψηλό ποσοστό στο-

ματίτιδας (71%), η οποία ήταν βαθμού 3-4 στο 22%, ενώ σοβαρού βαθμού θρομβοπενία παρατηρήθηκε σε ποσοστό 33%. Λόγω της περιορισμένης αποτελεσματικότητας, των ανεπιθύμητων ενεργειών και της αδυναμίας τεκμηρίωσης καθαρού κλινικού οφέλους, η Επιτροπή Φαρμακευτικών Προϊόντων για ανθρώπινη χρήση των ΗΠΑ (CHMP) πρότεινε αναστολή της εμπορικής χρήσης του φαρμάκου. Ειδικά στην ιστολογική κατηγορία του AITL, συνιστάται η αποφυγή της χρήσης του. Επί του παρόντος υπάρχουν μόνο 3 τρέχουσες κλινικές μελέτες σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα, ενώ οι υπόλοιπες έκλεισαν.

Αναστολείς της Αποακετυλάσης των Ιστονών

Ορισμένες από τις αποακετυλάσες των ιστονών

(HiDACs) υπερεκφράζονται στα ΠΤΛ και αποτελούν θεραπευτικούς στόχους. Οι αναστολείς των HiDACs προκαλούν ακετυλίωση των ιστονών, οδηγώντας σε επανέκφραση ογκοκατασταλτικών γονιδίων και κυτταρικό θάνατο. Για τα Λ-ΠΤΛ δύο φάρμακα της κατηγορίας αυτής έχουν λάβει έγκριση από τον FDA: η ρομιδεψίνη (romidepsin – Istodax®) και το belinostat (Beleodaq®).

Η Romidepsin έλαβε ένδειξη για τη θεραπεία των ασθενών με ΠΤΛ που έχουν λάβει ≥ 1 θεραπείας το 2011. Η ένδειξη αυτή βασίστηκε σε μελέτη φάσης II επί 130 ασθενών, εκ των οποίων οι 69 είχαν PTCL-NOS, οι 27 AITL και οι 21 ALK-ALCL, στους οποίους χορηγήθηκε η ρομιδεψίνη σε δόση 14mg/m² σε 4-6ωρη έγχυση τις ημέρες 1, 8 και 15 κύκλου 28 ημερών για 6 τουλάχιστον κύκλους⁵⁰⁻⁵¹. Αν και τα ποσοστά ανταπόκρισης και ΠΥ ήταν χαμηλά (25% και 15% αντίστοιχα), οι ανταποκριθέντες είχαν σημαντικό πλεονέκτημα, με διάμεση διάρκεια ύφεσης και PFS 28 και 29 μήνες αντίστοιχα. Το ασφαλές προφίλ του φαρμάκου καθώς και η περιορισμένη αποτελεσματικότητά του ως μονοθεραπεία έχει οδηγήσει σε σειρά μελετών συνδυασμού του με άλλους παράγοντες. Σε μελέτη φάσης I/II η ρομιδεψίνη συνδυάστηκε με

CHOP στην 1^η γραμμή θεραπείας σε δόση 12mg/m². Η συνολική ανταπόκριση ήταν 69% με 51% ΠΥ. Μετά από διάμεση παρακολούθηση 30 μηνών η PFS και η OS ήταν 41% και 71% αντίστοιχα. Εμφανίσθηκαν όμως καρδιακά ανεπιθύμητα συμβάματα. Στην παρούσα φάση βρίσκεται σε εξέλιξη μελέτη φάσης III που συγκρίνει το συνδυασμό Romidepsin-CHOP με το CHOP στην 1^η γραμμή, καθώς και άλλες μελέτες που διερευνούν την αποτελεσματικότητα της ρομιδεψίνης σε συνδυασμό με το χημειοθεραπευτικό σχήμα ICE, τη γεμισαβίνη, το pralatrexate και τη λεναλιδομίδη.

Ο δεύτερος παράγοντας της κατηγορίας αυτής, το belinostat, είναι ένας παν-αναστολέας των HiDACs με αντινεοπλασματικές και αντιαγγειογενετικές ιδιότητες. Η έγκρισή του από τον FDA το 2014 για τη θεραπεία των ανθεκτικών ή σε υποτροπή ΠΤΛ βασίστηκε στα δεδομένα της φάσης II μελέτης BELEF⁵². Σε αυτήν συμμετείχαν 120 ασθενείς από 62 κέντρα (64% PTCL-NOS, 18% AITL, 11% ALK-sALCL και 2% ALK+sALCL). Ο διάμεσος αριθμός των θεραπειών που προηγήθηκαν ήταν 2. Το Belinostat χορηγήθηκε σε δόση 1000mg/m², τις ημέρες 1-5 κάθε 3 εβδομάδες. Η συνολική ανταπόκριση ήταν 26% και το ποσοστό της

Πίνακας 4. Αναδρομικές Μελέτες Αλλογενούς Μεταμόσχευσης Αρχέγονων Αιμοποιητικών Κυττάρων σε λεμφαδενικά περιφερικά T λέμφωματα.

	Corradini 2004 ⁴⁰	Feyler 2007 ⁴¹	Le Gouill 2008 ⁴²	Kyriakou 2009 ⁴³	Dodero 2012 ⁴⁴
Αριθμός Ασθενών	17	18	77	45	52
Διάμεση Ηλικία (έτη)	41	28	36	48	
Ιστολογικοί Τύποι (%)	PTCL-NOS: 53 ALCL: 24 AITL: 24	PTCL-NOS: 39 ALCL: 17	PTCL-NOS: 35 ALCL: 35 AITL: 16	AITL: 100	PTCL-NOS: 44 ALCL: 21 AITL: 17
Προηγηθείσα ASCT (%)	47	11	25	24	52
Σχήματα προετοιμασίας	Thiotepa/Cy/Flu	ποικίλα	RIC: 74%	RIC: 56%	Thiotepa/Cy/Flu
Χημειοανθεκτικά (%)	12	ΔΑ	30	40	25
PFS/EFS (%)	3-ετής: 64	3-ετής: 33	5-ετής: 53 Χημειοευαίσθητα: 64 Χημειοανθεκτικά: 27	3-ετής: 54 Χημειοευαίσθητα: 66 Χημειοανθεκτικά: 33	5-ετής: 40 Χημειοευαίσθητα: 51 Χημειοανθεκτικά: 8
OS (%)	3-ετής: 81	3-ετής: 39	5-ετής: 57	3-ετής: 64	5-ετής: 50
TRM (%)	2-ετής: 6	3-ετής: 39	5-ετής: 34	1-ετής: 25	5-ετής: 12
Διάμεση παρακολούθηση (μήνες)	28	37	43	29	67

ALCL: συστηματικό αναπλαστικό λέμφωμα από μεγάλα κύτταρα, PTCL-NOS: περιφερικό T λέμφωμα μη ειδικού τύπου, AITL: αγγειοανοσοβλαστικό T λέμφωμα, ASCT (Autologous Stem Cell Transplantation): Αυτόλογη Μεταμόσχευση Αρχέγονων Αιμοποιητικών Κυττάρων, OS (Overall Survival): συνολική επιβίωση, PFS (Progression Free Survival): επιβίωση χωρίς εξέλιξη νόσου, EFS (Event Free Survival): επιβίωση ελεύθερη συμβάματος, TRM (Transplant-Related Mortality): θνητότητα που σχετίζεται με τη μεταμόσχευση, Thiotepa/Cy/Flu: συνδυασμός θειοτέπας, κυκλοφωσφαμίδης και φλουνταραμπίνης, RIC (Reduced Intensity Conditioning): σχήματα προετοιμασίας μειωμένης έντασης, ΔΑ: δεν αναφέρονται.

πλήρους ύφεσης 11%, η διάμεση PFS και OS ήταν 1.6 και 7.9 μήνες αντίστοιχα. Αν και η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου είναι περιορισμένη, αξίζει να σημειωθεί ότι η διάρκεια της ύφεσης για τους ανταποκριθέντες ήταν ιδιαίτερα ικανοποιητική (13.6 μήνες) και ότι το φάρμακο έχει σημαντική δραστηριότητα στην ιστολογική κατηγορία του AITL (45.5%). Οι ανεπιθύμητες ενέργειες δεν ήταν σοβαρές, πλην της αναμενόμενης αιματολογικής τοξικότητας. Παρεμφερή αποτελεσματικότητα του Belinostat ανέδειξε και έτερη φάσης II μελέτη που περιελάμβανε 24 ασθενείς με ΠΤΛ⁵³.

Ανοσοσυζεύγματα

Στην κατηγορία αυτή ανήκει το Brentuximab Vedotin (BV), γνωστό και ως SGN-35 (Adcetris®). Αποτελεί σύμπλεγμα του αντισώματος αντί-CD30 συνδεδεμένο με τη μονομεθυλαυριστατίνη E (MMAE), η οποία είναι αντινεοπλασματικός παράγων. Το αντίσωμα συνδέεται στην επιφάνεια των κυττάρων που φέρουν το αντίστοιχο αντιγόνο (CD30), εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα, όπου στα λυσοσώματα διασπάται και απελευθερώνεται η MMAE, η οποία δρα τοξικά στη μιτωτική άτρακτο και προκαλεί κυτταρικό θάνατο. Το BV είναι το 4^ο φάρμακο που έχει λάβει έγκριση στην κατηγορία των Λ-ΠΤΛ. Συγκεκριμένα έχει ένδειξη τόσο στις ΗΠΑ όσο και την Ευρώπη για τη θεραπεία του ανθεκτικού ή σε υποτροπή sALCL που εξ' ορισμού είναι CD30 θετικό. Απευθύνεται επί του παρόντος μόνο στην ιστολογική υποκατηγορία του αναπλαστικού λεμφώματος, τόσο του ALK+ όσο και του ALK-. Σε αντίθεση δε με τους προαναφερθέντες νέους παράγοντες, το BV είναι εξαιρετικά αποτελεσματικό, έχει αλλάξει τη δυσμενή φυσική ιστορία του αναπλαστικού λεμφώματος, ειδικά του ALK- και αποτελεί θεραπεία εκλογής στο υποτροπιάζον/ανθεκτικό sALCL. Πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι στους ασθενείς που είναι κατάλληλοι για ASCT, η διαδικασία της αυτόλογης μεταμόσχευσης για τους χημειουαίσθητους ασθενείς πρέπει να αποτελεί τον πρωτεύοντα θεραπευτικό στόχο, καθώς έχει ικανοποιητικά αποτελέσματα στο μακροχρόνιο έλεγχο της νόσου. Η βασική μελέτη έγκρισης του BV ήταν μια φάσης II μελέτη που περιελάμβανε 58 ασθενείς με ανθεκτικό/σε υποτροπή sALCL, εκ των οποίων το 72% ήταν ALK-, 50% ήταν ανθεκτικοί στην αμέσως προηγούμενη χημειοθεραπεία, 22% δεν είχαν ανταποκριθεί σε κανένα θεραπευτικό σχήμα και 25% είχαν υποβληθεί σε ASCT. Η δόση του φαρμάκου είναι 1.8mg/kg έως 180mg η μέγιστη δόση ανά 3 εβδομάδες έως 16 κύκλους. Σε αυτόν τον πληθυσμό ασθενών με ιδιαίτερα δυσμενή χαρακτηριστικά, τα αποτελέσματα ήταν εντυπωσιακά

με συνολική ανταπόκριση 86% και ποσοστό ΠΥ 57%⁵⁴. Η αρνητικότητα στην ALK δεν αποτελούσε αρνητικό προγνωστικό παράγοντα, ενώ παράλληλα η δερματική νόσος ανταποκρίθηκε άριστα (93%). Επιπλέον οι ανταποκρίσεις είναι σημαντικής διάρκειας, όπως φαίνεται από την επικαιροποίηση των δεδομένων. Έτσι με διάμεση παρακολούθηση 3 ετών περίπου η διάμεση PFS, η διάρκεια της ανταπόκρισης και η διάρκεια της ΠΥ ήταν 14.6, 13.2 και 26.3 μήνες αντίστοιχα⁵⁵. Στα δε 4 έτη, η διάμεση PFS έφτανε τους 20 μήνες, ενώ το 64% των ασθενών ήταν εν ζωή⁵⁶. Από την αντίστοιχη καμπύλη επιβίωσης φαίνεται ότι ενδεχομένως ένα ποσοστό των ασθενών να επιτυγχάνει ίαση. Από τους 38 ασθενείς που είχαν επιτύχει ΠΥ οι 19 (50%) ήταν χωρίς νόσο μετά από διάμεσο χρόνο παρακολούθησης 46.7 μηνών. Η θεραπεία με BV επέτρεψε στο 31% των ασθενών να υποβληθεί σε μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων στη συνεία. Το BV έχει λοιπόν επιφέρει πραγματική και κλινικά σημαντική πρόοδο στη θεραπεία του sALCL. Προ της εισαγωγής του BV, η διάμεση επιβίωση των ασθενών σε υποτροπή ήταν 7 μήνες για τους ALK- και 12 μήνες για τους ALK+ έναντι >4 ετών στη μετά BV εποχή. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες του φαρμάκου περιλαμβάνουν νευροτοξικότητα (57%) και μυελοκαταστολή, κυρίως ουδετεροπενία (21%). Στην πλειονότητα των ασθενών (81%) η νευροπάθεια βελτιώνεται ή/και υποχωρεί πλήρως σε διάστημα 10 εβδομάδων με καθυστέρηση ή μείωση της δόσης σε 1.2 mg/kg.

Διερευνώνται περαιτέρω εφαρμογές του BV στα ΠΤΛ, όπως η 1) η επαναχορήγησή του μετά από αρχική ανταπόκριση σε αυτό, 2) η χορήγησή του στις άλλες ιστολογικές κατηγορίες των ΠΤΛ, όταν αυτές εκφράζουν CD30, και 3) ο συνδυασμός του με χημειοθεραπεία στην 1^η γραμμή. Από τα αρχικά δεδομένα εξάγονται ορισμένα ενδιαφέροντα και ελπιδοφόρα συμπεράσματα. Από τους 8 ασθενείς με sALCL, στους οποίους επαναχορηγήθηκε το BV, ανταποκρίθηκαν οι 7, εκ των οποίων οι 5 με ΠΥ, η δε διάμεση διάρκεια της ανταπόκρισής τους ήταν 12.9 μήνες. Αναφορικά με τη χρήση του BV σε άλλες πλην του sALCL CD30+ οντότητες, πρέπει κατ' αρχάς να σχολιαστεί η ανομοιογένεια των αποτελεσμάτων και η έλλειψη προτύπωσης για τον καθορισμό της θετικότητας στο δείκτη CD30 με ανοσοϊστοχημεία. Το όριο θετικότητας είναι αυθαίρετο και κυμαίνεται από 5% έως 30% των κυττάρων στις διάφορες μελέτες. Επιπλέον, η έκφρασή του ποικίλλει ανάμεσα στις ιστολογικές κατηγορίες των ΠΤΛ, καθώς και ανάμεσα στους ερευνητές. Έτσι η θετικότητα για το CD30 αναφέρεται στο 3-52% των PTCL-NOS και στο 0-21% των AITL. Σε πρόσφατη

Πίνακας 5. Νέοι Παράγοντες στα Λεμφαδενικά Περιφερικά Τ-Λεμφώματα.

Παράγων	Μηχανισμός δράσης	Συγγραφέας	Αριθμός Ασθενών	ΣΑΠΥ (%)	DoR (μ)	PFS (μ)	OS (μ)
Pralatrexate Αναστολέας του ενζύμου DHFR	Αναστολή σύνθεσης πουρινών/πυριμιδινών	O'Connor OA 201149	111 PTCL-NOS: 59 AITL: 13 sALCL: 17	29/11 32 8 35	10.1	3.5	14.5
Romidepsin Αναστολέας των HDAC τύπου I (1, 2, 3)	Επιγενετικές διαταραχές σε ΠΤΛ (υπερέκφραση HIDACs)	Piekartz RL 201163	47 PTCL-NOS: 27 AITL: 7 ALCL: 4	38/18 41 17 100	9	-	-
Belinostat Παν-αναστολέας HIDAC	Επιγενετικές διαταραχές σε ΠΤΛ (υπερέκφραση HIDACs)	Coiffier B 201451	130 PTCL-NOS: 69 AITL: 27 ALK-sALCL: 21	25/15 29/14 30/19 24/19	28	4	11.3
Brentuximab Vedotin αντι-CD30 MoAb + MMAE	sALCL εκφράζουν CD30	O'Connor OA 201552	120 PTCL-NOS: 77 AITL: 22 sALCL: 15	26/11 23 46 13	13.6	1.6	7.9
Alemtuzumab (αντι-CD52 MoAb)	Κάτσια εκφράζουν CD30	Pro B, 2012, 2013, 201454,55,56	58 sALCL ALK+: 16 ALK-: 42	86/57	12.6	20	4 έτη: 64%
Bortezomib (Αναστολέας πρωτεασώματος) + Panobinostat (Αναστολέας HIDAC)	Κάτσια PTCL/AITL εκφράζουν CD30	Horwitz 201460	35 PTCL-NOS:22 AITL: 13	41/24 33/14 54/38	7.6 5.5	1.6 6.7	-
Bortezomib + gemcitabine	Κάτσια ΠΤΛ εκφράζουν CD52	Enblad G 200464	14 PTCL-NOS:10 AITL: 2	36/14	6	-	-
Denileukin Diffitox (Χιμαρική πρωτεΐνη: διφθεριτοδική τοξίνη + IL-2)	Ενεργοποίηση της οδού NFκappa B σε ΠΤΛ Κάτσια ΠΤΛ εκφράζουν HIDAC	Goh Y-T 201463	25 PTCL-NOS:11 AITL: 8 sALCL: 3	43/22	-	-	-
	Ενεργοποίηση της οδού NFκB σε ΠΤΛ	Evens 201363	16 PTCL-NOS: 12 AITL: 1	36/27	-	-	-
	Έκφραση CD25 (υποδοχέας IL-2) από ορισμένα ΠΤΛ	Dang NH 200762	27	48/22	-	6	-

Πίνακας 5. (συνέχεια) Νέοι Παράγοντες στα λεμφαδενοειδή περιφερικά Τ-λεμφώματα.

Παράγων	Μηχανισμός δράσης	Συγγραφέας	Αριθμός Ασθενών	ΣΑΠΥ (%)	DoR (μ)	PFS (μ)	OS (μ)
Lenalidomide (ανοσοτροποποιητικός παράγων)		Dueck G 201063	23 PTCL-NOS: 10 AITL: 7 sALCL: 5	30/0	-	3.1	7.9
	Αντιεοπλασματική, αντιangiogenετική, ανοσοτροποποιητική δράση	Zinzani PL 201163	10	30/30	11-19	-	-
	Βελτίωση της λειτουργικότητας των T/NK λεμφοκυττάρων	Morschhauser F 201363	54 PTCL-NOS: 20 AITL: 26 sALCL: 3	22/11	3.6	2.5	-
		Tourmishey E 201563	39 PTCL-NOS: 14 AITL: 9 sALCL: 10	26/8 43/14 33/11 10/0	5	4	12
Mogamulizumab (αντι-CCR4 MoAb)	Κάπνισμα ΠΤΑ εκφράζουν CCR4 Tregs εκφράζουν CCR4	Ogura M 201463	37	35/14	-	3	-
		Zinzani PL 201463	38	11	2.9	2.1	-
Crizotinib Αναστολέας ALK	ALK+sALCL εκφράζουν ALK	Gambacorti Passerini C 201467	9 ALK+ sALCL	100/100	-	2 έτη: 64%	2 έτη: 73%
Sorafenib Αναστολέας πολλαπλών κινασών (BRAF, PDGFR, VEGF)	Κάπνισμα ΠΤΑ εκφράζουν PDGFR, VEGF	Gibson JF 201470	3	2/3	-	-	-
Duvelisib Αναστολέας PI3K/δ	Αναστολή μονοπατιού που ακολουθεί την κινάση Syk,	Horwitz 201463	16	47/13	-	-	36.4 εβδομάδες
Alisertib Αναστολέας Aurora A Kinase (AAK)	Κάπνισμα ΠΤΑ εκφράζουν AAK	Friedberg J 201468	8	50/38	250 ημέρες	-	1 έτος: 75%
		Barir PM 201569	37 PTCL-NOS: 13 AITL: 9 sALCL: 2	30/7 31/8 33/0 50/0	3	-	-

ΠΤΑ: Περιφερικά Τ Λεμφώματα, ΣΑ: ποσοστό συνολικής ανταπόκρισης, DoR (Duration of Response): διάρκεια διάρκειας ανταπόκρισης, ΠΥ: πλήρης ύφεση, OS (Overall Survival): συνολική επιβίωση, PFS (Progression Free Survival): επιβίωση χωρίς εξέλιξη νόσου, ALK: κινάση του αναπλαστικού λεμφώματος, ALCL: συστημικό αναπλαστικό λεμφώμα από μεγάλο κύτταρο, PTCL-NOS: περιφερικό Τ λεμφώμα μη ειδικού τύπου, AITL: αγενεοανασθλαστικό Τ λεμφώμα, DHFR (dihydrofolate reductase): διϋδροφολική ρεδοκτάση, HDAC (Histone deacetylase): απασκευλάση των ιστονών, MMAE: μονομεθυλαριστατίνη E, MoAb (Monoclonal Antibody): Μονοκλωνικό Αντίσωμα, Tregs (T regulatory cells): Τ ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα.

ανάλυση οι Bossard & cols εξέτασαν την έκφραση του CD30 με ημιποσοτική ανοσοϊστοχημική μέθοδο και ανέδειξαν ότι το 58% των PTCL-NOS και το 63% των AITL ήταν θετικά με όριο το 5% των κυττάρων. Έντονη θετικότητα ($\geq 50\%$ των κυττάρων) είχαν μόνο το 23% και 5% των PTCL-NOS και AITL αντίστοιχα⁵⁹. Βέβαια η σημασία του ποσοστού και της έντασης του CD30 για την ανταπόκριση στο BV παραμένει ανοικτό ζήτημα. Στη φάσης II μελέτη των Horwitz et al, το BV χορηγήθηκε σε 35 ασθενείς με μη αναπλαστικό CD30+ Λ-ΠΤΛ (22 με PTCL-NOS και 13 με AITL). Επιτρεπόταν η συμμετοχή περιπτώσεων με οποιαδήποτε θετικότητα στο CD30. Ωστόσο μετά από κεντρική ανασκόπηση, 17% είχαν μηδενική έκφραση του αντιγόνου. Το 1/3 των ασθενών με PTCL-NOS και >50% εκείνων με AITL ανταποκρίθηκαν με διάμεση διάρκεια ανταπόκρισης 7.6 και 5.5 μήνες αντίστοιχα. Είναι εντυπωσιακό ότι δεν υπήρχε συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του CD30 και της απάντησης στη θεραπεία. Μάλιστα 2 από τους ανταποκριθέντες ήταν τελείως αρνητικοί. Ωστόσο όλοι οι ασθενείς είχαν αυξημένα επίπεδα διαλυτού CD30⁶⁰. Η έλλειψη συσχέτισης μεταξύ έκφρασης CD30 και ανταπόκρισης στο BV είναι αινιγματική. Πιθανώς η ανοσοϊστοχημεία να μην μπορεί να αναδείξει πολύ χαμηλά επίπεδα έκφρασης CD30. Άλλη πιθανότητα είναι η τοπική απελευθέρωση φαρμάκου από θνήσκοντα κύτταρα σε ικανή συγκέντρωση για τη θανάτωση παρακειμένων νεοπλασματικών κυττάρων, ακόμη και όταν λίγα κύτταρα εκφράζουν το αντιγόνο.

Αναφορικά με την 3^η νέα εφαρμογή του BV που διερευνάται, δηλαδή τον συνδυασμό του με CH(O)P στην 1^η γραμμή σε ασθενείς με CD30+ ΠΤΛ, τα προκαταρκτικά δεδομένα της φάσης I μελέτης των Fanale και συνεργατών είναι υποσχόμενα⁶¹. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο της μελέτης ήταν η ανεύρεση της δόσης του BV και η ασφάλεια. Η μελέτη είχε 2 σκέλη. Στο 1^ο σκέλος (διαδοχική χορήγηση) οι ασθενείς ελάμβαναν 2 κύκλους BV, στη συνέχεια 6 κύκλους CHOP και ακολούθως 8 κύκλους BV. Στο 2^ο σκέλος (συγχορήγηση) ελάμβαναν 6 κύκλους BV+CHP (με παράλειψη της βινκριστίνης) και στη συνέχεια 10 κύκλους BV. Το όριο θετικότητας για το CD30 ήταν $\geq 1\%$. Στη μελέτη συμμετείχαν συνολικά 32 ασθενείς με sALCL και 7 με άλλους ιστολογικούς υποτύπους. Και τα 2 σκέλη ήταν ασφαλή ενώ η αποτελεσματικότητα εντυπωσιακή (συνολική ανταπόκριση: 100%, ΠΥ: 88%). Με βάση τα δεδομένα αυτά, διενεργείται τρεχόντως τυχαίοποιημένη φάσης III μελέτη (ECH-ELON-2) που συγκρίνει το συνδυασμό BV+CHP έναντι του CHOP στην 1^η γραμμή θεραπείας σε ασθενείς με CD30+ ΠΤΛ (NCT01777152).

Στην ίδια θεραπευτική κατηγορία ανήκει και η ανοσοτοξίνη denileukin diftitox (Ontak[®]) που είναι μια γενετικά ανασυνδυασμένη χιμαιρική πρωτεΐνη αποτελούμενη από τις αλληλουχίες αμινοξέων για τα κλάσματα A και B της διφθεριδικής τοξίνης με τις αλληλουχίες της ανθρώπινης ιντερλευκίνης-2. Από φάσης II μελέτες η συνολική ανταπόκριση ως μονοθεραπεία ήταν 48%⁶², ειδικά στις CD25+ περιπτώσεις. Λόγω της απουσίας μυελοκατασταλτικής δράσης της συνδυάστηκε στην 1^η γραμμή θεραπείας με CHOP με εντυπωσιακά αποτελέσματα. Παρ' όλα αυτά το φάρμακο έχει αποσυρθεί από την κυκλοφορία από το 2011 λόγω σοβαρών ανεπιθύμητων ενεργειών⁶³.

Μονοκλωνικά Αντισώματα

Το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα που έχει εφαρμοσθεί στα ΠΤΛ είναι το Alemtuzumab (MabCampath[®]) που κατευθύνεται έναντι του αντιγόνου CD52, το οποίο εκφράζεται στην επιφάνεια των B-, T-λεμφοκυττάρων και των μονοκυττάρων, όντας έτσι εξαιρετικά ανοσοκατασταλτικό. Ως μονοθεραπεία επιφέρει βραχυπρόθεσμες ανταποκρίσεις της τάξεως του 36%⁶⁴. Το Alemtuzumab έχει δοκιμασθεί σε συνδυασμό με CHOP, Fludarabine/cyclophosphamide/doxorubicin, ESHAP και DA-EPOCH^{63,65}. Παρά τα ικανοποιητικά ποσοστά ανταπόκρισης, η μακροχρόνια αποτελεσματικότητα του δεν ήταν αξιοσημείωτη, ενώ παράλληλα φαίνεται να σχετίζεται με σημαντική αιματολογική τοξικότητα καθώς και σοβαρές ευκαιριακές λοιμώξεις. Έτσι, η εμπορική του διάθεση έχει πλέον διακοπεί.

Το Mogamulizumab είναι ένα ανθρωποποιημένο αποφουκοζυλιωμένο μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του υποδοχέα χυμοκίνης CCR4. Ο CCR4 εκφράζεται έντονα στην T λευχαιμία/λέμφωμα των ενηλίκων (ATLL), όπου έχει σημαντική δραστηριότητα, αλλά η έκφρασή του ποικίλει στα ΠΤΛ, όπου εκφράζεται κυρίως στο AITL. Ο μηχανισμός δράσης του περιλαμβάνει τη θανάτωση των νεοπλασματικών κυττάρων που είναι CCR4 θετικά, αλλά επιπλέον κατευθύνεται και εναντίον των ρυθμιστικών T-λεμφοκυττάρων (Tregs) που εκφράζουν τον CCR4. Είναι γνωστό ότι τα Tregs δημιουργούν μικροπεριβάλλον που επιτρέπει την ανοσιακή διαφυγή της νεοπλασίας. Αν και τα αρχικά δεδομένα από την Ιαπωνία ήταν ιδιαίτερα ελπιδοφόρα, αυτά δεν αναπαρήχθησαν σε κλινική μελέτη στην Ευρώπη επί 38 ασθενών με ΠΤΛ, όπου η ανταπόκριση ήταν μόνο 11% και η PFS ιδιαίτερα βραχεία⁶³.

Το Zanolimumab είναι ένα αντι-CD4 αντίσωμα και έχει εφαρμοσθεί με περιορισμένη δραστηριότητα σε CD4+ ΠΤΛ⁶⁵.

Αναστολείς του Πρωτεασώματος / Ανοσοτροποποιητικοί παράγοντες

Η ενεργοποίηση της οδού του NF-κΒ είναι ένας βασικός παθογενετικός μηχανισμός στο ALK-sALCL, ενώ φαίνεται να συμμετέχει και σε υποομάδες του AITL καθώς και των PTCL-NOS, ειδικά στις περιπτώσεις που εκφράζουν TBX21. Η δραστηριότητα του ελέγχεται σε συνδυασμούς με άλλους παράγοντες, όπως η gemcitabine και το panobinostat (HIDAC αναστολέας χορηγούμενος από το στόμα) με ιδιαίτερα ικανοποιητικά αποτελέσματα⁶³.

Η δραστηριότητα της λεναλιδομίδης έχει διερευνηθεί και στην κατηγορία των ανθεκτικών/σε υποτροπή ΠΤΛ. Είναι γνωστές η αντινεοπλασματική, ανοσοτροποποιητική και αντιαγγειογενετική της δράση, καθώς και η ευόδωση της λειτουργικότητας των T- και NK λεμφοκυττάρων. Η δραστηριότητά της είναι μέτρια με ανταποκρίσεις 22-30%, που είναι κυρίως μερικές υφέσεις με βραχεία διάρκεια⁶³. Ωστόσο ειδικά στο AITL, όπου το μικροπεριβάλλον παίζει ιδιαίτερο παθογενετικό ρόλο, θεωρητικά η λεναλιδομίδα αναμένεται να είναι δραστική. Με το σκεπτικό αυτό, τρέχουσα φάσης II μελέτη εφαρμόζει τον συνδυασμό CHOP/λεναλιδομίδης στην 1^η γραμμή θεραπείας σε ασθενείς ≥60 ετών με AITL. Τα αρχικά αποτελέσματα επί 39 ασθενών ήταν σχετικά ικανοποιητικά (συνολική ανταπόκριση: 54%, πλήρης ύφεση: 46%)⁶⁶.

Αναστολείς Κινασών

Η πρόοδος στην κατανόηση της βιολογίας των ΠΤΛ, αν και εξαιρετικά καθυστερημένη σε σχέση με τα B-λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα έχει εντοπίσει βιολογικές υποκατηγορίες που χαρακτηρίζονται από την ενεργοποίηση ενδοκυττάρων μονοπατιών και των αντίστοιχων κινασών, προσφέροντας έτσι πιθανούς θεραπευτικούς στόχους. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το ALK+sALCL, όπου υπερεκφράζεται η κινάση ALK ως αποτέλεσμα της αναδιάταξης t(2;5)(p23;q35) που οδηγεί στο χιμαιρικό γονίδιο NPM/ALK. Επιπλέον το 20% των PTCL-NOS χαρακτηρίζονται από την αναδιάταξη ITK/Syk που οδηγεί στην ενεργοποίηση της οδού Syk. Επίσης σε ένα ποσοστό των PTCL-NOS παρατηρείται ενεργοποίηση της οδού PDGFR.

Το Crizotinib είναι αναστολέας της ALK που έχει εντυπωσιακή αποτελεσματικότητα στο ALK+sALCL. Σε μια ανάλυση επί 9 ασθενών, ανταποκρίθηκαν όλοι και μάλιστα με ΠΥ. Στους 4 δε ασθενείς, η διάρκεια της ύφεσης ήταν μακροχρόνια (>21 έως >41 μήνες)⁶⁷.

Το Alisertib είναι αναστολέας της κινάσης Aurora A, η οποία είναι απαραίτητη για το σχηματισμό της

μιτωτικής ατράκτου και ρυθμίζει τη μετάβαση από την G2 στην M φάση του κυτταρικού κύκλου. Υπερεκφράζεται σε διάφορα νεοπλασμάτα και κυρίως σε λεμψώματα που χαρακτηρίζονται από ταχέως πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα, μεταξύ των οποίων και τα ΠΤΛ. Μετά τα αρχικά αποτελέσματα δύο φάσης II μελετών, όπου παρατηρήθηκαν ανταποκρίσεις σε ποσοστά 30-50%^{68,69}, διενεργείται τρεχόντως τυχαίοποιημένη φάσης III μελέτη (NCT01482962) σε ασθενείς με ανθεκτικά/σε υποτροπή ΠΤΛ που συγκρίνει την αποτελεσματικότητα και ασφάλεια του Alisertib έναντι της θεραπευτικής επιλογής του ερευνητή (μεταξύ pralatrexate, romidepsin και gemcitabine). Προσφάτως όμως η μελέτη έκλεισε πρόωρα, καθώς κατά την προγραμματισμένη ενδιάμεση ανάλυση, έγινε εμφανές ότι δεν ήταν πιθανό να επαληθευτεί το πρωτογενές καταληκτικό σημείο της μελέτης, η υπεροχή δηλαδή του Alisertib αναφορικά με την PFS.

Άλλοι αναστολείς κινασών των οποίων η δραστηριότητά εξετάζεται στα ΠΤΛ είναι οι Duvelisib και Sorafenib^{63,70}.

Συμπεράσματα

Παρά την έκρηξη νέων θεραπευτικών παραγόντων, η φυσική ιστορία και η πρόγνωση των ΠΤΛ δεν έχει βελτιωθεί σημαντικά με εξαίρεση το BV στο sALCL. Μόνο η κατανόηση της βιολογικής ετερογένειας των νοσημάτων αυτών θα καταστήσει δυνατή την επιτυχέστερη αντιμετώπισή τους. Προσφάτως έχουν αναδειχθεί βιολογικές υποκατηγορίες που περιλαμβάνουν διαταραχές σηματοδοτικών οδών όπως των NF-κΒ και m-TOR, μεταλλάξεις όπως των IDH και TET2, αναδιατάξεις όπως η ITK/Syk και άλλα. Ενδεχομένως πολλαπλές οδοί συμμετέχουν στην παθογένεια των οντοτήτων αυτών, έτσι ώστε η κλινική έρευνα να κατευθύνεται σε συνδυασμό βιολογικών παραγόντων και χημειοθεραπευτικών, όπως ο συνδυασμός του BV με CHOP στην αρχική θεραπεία των CD30+ ΠΤΛ ή ο συνδυασμός pralatrexate/romidepsin.

Είναι τέλος προφανής η αναγκαιότητα ένταξης των ασθενών με ΠΤΛ σε πολυκεντρικές μελέτες, προκειμένου να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για την αποτελεσματικότητα των διαθέσιμων θεραπευτικών στρατηγικών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Pileri SA, Swerdlow SH, Campo E et al. World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, IARC Press, Lyon 2008.
2. Vose JM, Armitage J, Weisenburger D. International

- Peripheral T-Cell and Natural Killer /T-Cell Lymphoma Study: Pathology Findings and Clinical Outcomes. *J Clin Oncol* 2008; 26:4124-4130.
3. Gisselbrecht C, Gaulard P, Lepage E, Coiffier B, Briere J, Haioun C et al. Prognostic significance of T-cell phenotype in aggressive non-Hodgkin's lymphomas. Groupe d' Etudes des Lymphomes de l'Adulte (GELA). *Blood* 1998; 92:76-82.
 4. Melnyk A, Rodriguez A, Pugh WC, Cabanillas F. Evaluation of the Revised European-American Lymphoma classification confirms the clinical relevance of immunophenotype in 560 cases of aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 89:4514-4520.
 5. Lopez-Guillermo A, Cid J, Salar A, Lopez A, Montalban C, Castrillo JM et al. Peripheral T-cell lymphomas: initial features, natural history, and prognostic factors in a series of 174 patients diagnosed according to the R.E.A.L. Classification. *Ann Oncol* 1998; 9:849-855.
 6. Ascani S, Zinzani PL, Gherlinzoni F, Sabattini E, Briskomatis A, de Vivo A et al. Peripheral T-cell lymphomas. Clinicopathologic study of 168 cases diagnosed according to the R.E.A.L. Classification. *Ann Oncol* 1997; 8:583-592.
 7. Gallamini A, Stelitano C, Calvi R, Bellei M, Mattei D, Vitolo U et al. Peripheral T-cell lymphoma unspecified (PTCL-U): a new prognostic model from a retrospective multicentric clinical study. *Blood* 2004; 103:2474-2479.
 8. Rudiger T, Weisenburger DD, Anderson JR, Armitage JO, Diebold J, MacLennan KA et al. Peripheral T-cell lymphoma (excluding anaplastic large-cell lymphoma): results from the Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Ann Oncol* 2002; 13:140-149.
 9. Sonnen R, Schidt W, Muller-Hermelink H, Schmitz N. The international prognostic index determines the outcome of patients with nodal mature T-cell lymphomas. *Br J Haematol* 2005; 129:366-372.
 10. Sung HJ, Kim SJ, Seo YH, Sul HR, Choi JG, Choi IK et al. Prospective analysis of treatment outcome and prognostic factors in patients with T-cell lymphomas treated by CEOP-B: single institutional study. *Br J Haematol* 2006; 134:45-53.
 11. Angelopoulou MK, Vassilakopoulos TP, Tsirkinidis P, Masouridis S, Moschoyiannis M, Korkolopoulou P et al. Nodal peripheral T-cell lymphomas: Treatment outcome and prognostic factors. *Haematologica* 2008; 93: Abstract 0774.
 12. Escalón MP, Liu NS, Yang Y, Hess M, Walker LP, Smith TL et al. Prognostic factors and treatment of patients with T-cell non-Hodgkin lymphoma: the M.D. Anderson Cancer Center experience. *Cancer* 2005; 103:2091-2098.
 13. Nickelsen M, Ziepert M, Zeynalova S, Glass B, Metzner B, Leithaeuser M et al. High-dose CHOP plus etoposide (MegaCHOEP) in T-cell lymphoma: a comparative analysis of patients treated within trials of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Ann Oncol* 2009; 20:1977-1984.
 14. Ellin F, Landström J, Jerkeman M, Relander T. Real-world data on prognostic factors and treatment in peripheral T-cell lymphomas: a study from the Swedish Lymphoma Registry. *Blood* 2014; 124:1570-1577.
 15. Schmitz N, Trümper L, Ziepert M, Nickelsen M, Ho AD, Metzner B et al. Treatment and prognosis of mature T-cell and NK-cell lymphoma: an analysis of patients with T-cell lymphoma treated in studies of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group. *Blood* 2010; 116:3418-3425.
 16. Janikova A, Bortlicek Z, Kopalova N, Campr V, Benesova K, Belada D et al. CHOEP versus CHOP gives better results in first-line therapy of T-cell lymphoma. A retrospective analysis from Czech Lymphoma Study Group (GLSG) Database *Hematol Oncol* 2015; 33:Abstract 099 .
 17. Tilly H, Mounier N, Lederlin P, Briere J, Dupriez B, Sebban C et al. Randomized Comparison of ACVBP and m-BACOD in the Treatment of Patients With Low-Risk Aggressive Lymphoma: The LNH87-1 Study. *J Clin Oncol* 2000; 18:1309-1315.
 18. Bouabdallah R, Delmer A, Xerri L, Mounier N, Reyes F. ESHAP chemotherapy regimen and 13-cis-retinoic acid in elderly patients with untreated poor-prognosis peripheral T-cell lymphoma: a GELA phase II trial of feasibility and efficacy. *Ann Oncol* 2005; 16: v131 Abstract 322.
 19. Aviles A, Castaneda C, Neri N, Cleto S, Talavera A, González M et al. Results of a phase III clinical trial: CHOP versus CMED in peripheral T-cell lymphoma unspecified. *Med Oncol* 2008; 25:360-364.
 20. Vose JM, Peterson C, Bierman PJ, Weisenburger DD, Linder J, Harrington D et al. Comparison of high-dose therapy and autologous bone marrow transplantation for T-cell and B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1990; 76:424-431.
 21. Fanin R, Ruiz de Elvira MC, Sperotto A, Baccarani M, Goldstone A. Autologous stem cell transplantation for T and null cell CD30-positive anaplastic large cell lymphoma: analysis of 64 adult and paediatric cases reported to the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant* 1999; 23:437-442.
 22. Blystad AK, Enblad G, Kvaloy S, Berglund A, Delabie J, Holte H et al. High-dose therapy with autologous stem cell transplantation in patients with peripheral T cell lymphomas. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27:711-716.
 23. Jantunen E, Wiklund T, Juvonen E, Putkonen M, Lehtinen T, Kuittinen O, et al. Autologous stem cell transplantation in adult patients with peripheral T-cell lymphoma: a nation-wide survey. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33:405-410.
 24. Song KW, Mollee P, Keating A, Crump M. Autologous stem cell transplant for relapsed and refractory peripheral T-cell lymphoma: variable outcome according to pathological subtype. *Br J Haematol* 2003; 120:978-985..
 25. Angelopoulou MK, Nademanee A, Dagens A, Molina A, Fung HC, Parker PM et al. Comparison of outcome of high dose chemotherapy (HDT) and autologous stem cell

- transplantation (ASCT) in peripheral T cell lymphoma (PTCL) vs diffuse large B cell lymphoma (B-DLCL). *Blood* 2003; 102: Abstract 247a.
26. Schetelig J, Fetscher S, Reichle A, Berdel WE, Beguin Y, Brunet S et al. Long-term disease-free survival in patients with angioimmunoblastic T-cell lymphoma after high-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation. *Haematologica* 2003; 88:1272-1278.
 27. Kewalramani T, Zelenetz AD, Teruya-Feldstein J, Hamlin P, Yahalom J, Horwitz S et al. Autologous transplantation for relapsed or primary refractory peripheral T-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2006; 134:202-207.
 28. Rodriguez J, Conde E, Gutiérrez A, Arranz R, Leon A, Marin J et al. The results of consolidation with autologous stem-cell transplantation in patients with peripheral T-cell lymphoma (PTCL) in first complete remission: the Spanish Lymphoma and Autologous Transplantation Group experience. *Ann Oncol* 2007; 18:652-657.
 29. Rodriguez J, Conde E, Gutierrez A, Lahuerta JJ, Arranz R, Sureda A et al. The adjusted International Prognostic Index and beta-2-microglobulin predict the outcome after autologous stem cell transplantation in relapsing/refractory peripheral T-cell lymphoma. *Haematologica* 2007; 92:1067-1074.
 30. Chen AI, McMillan A, Negrin RS, Horning SJ, Laport GG. Long-term results of autologous hematopoietic cell transplantation for peripheral T cell lymphoma: the Stanford experience. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14:741-747.
 31. Yang DH, Kim WS, Kim SJ, Bae SH, Kim SH, Kim IH et al. Prognostic factors and clinical outcomes of high-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in patients with peripheral T cell lymphoma, unspecified: complete remission at transplantation and the prognostic index of peripheral T cell lymphoma are the major factors predictive of outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15:118-125.
 32. Corradini P, Tarella C, Zallio F, Dodero A, Zanni M, Valagussa P et al. Long-term follow-up of patients with peripheral T-cell lymphomas treated up-front with high-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation. *Leukemia* 2006; 20:1533-1538.
 33. Reimer P, Rüdiger T, Geissinger E, Weissinger F, Nerl C, Schmitz N et al. Autologous stem-cell transplantation as first-line therapy in peripheral T-cell lymphomas: results of a prospective multicenter study. *J Clin Oncol* 2009; 27:106-113.
 34. Wilhelm M, Smetak M, Reimer P, Geissinger E, Ruediger T, Metzner B et al. First-line therapy of peripheral T-cell lymphoma: extension and long-term follow-up of a study investigating the role of autologous stem cell transplantation. *Blood Cancer J* 2016; 6:e452.
 35. d'Amore F, Relander T, Lauritzsen G, Jantunen E, Hagberg H, Anderson H et al. Up-front autologous stem-cell transplantation in peripheral T-cell lymphoma: NLG-T-01. *J Clin Oncol* 2012; 30:3093-3099.
 36. Rodríguez J, Conde E, Gutiérrez A, Arranz R, Leon A, Marin J et al. Frontline autologous stem cell transplantation in high-risk peripheral T-cell lymphoma: a prospective study from The Gel-TAMO Study Group. *Eur J Haematol* 2007; 79:32-38.
 37. Mercadal S, Briones J, Xicoy B, Pedro C, Escoda L, Estany C et al. Intensive chemotherapy (high-dose CHOP/ESHAP regimen) followed by autologous stem-cell transplantation in previously untreated patients with peripheral T-cell lymphoma. *Ann Oncol* 2008; 19:958-963.
 38. Mounier N, Gisselbrecht C, Brière J, Haioun C, Feugier P, Offner F et al. All aggressive lymphoma subtypes do not share similar outcome after front-line autotransplantation: a matched-control analysis by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). *Ann Oncol* 2004; 15:1790-1797.
 39. Dodero A, Spina F, Narni F, Patriarca F, Olivieri, Rossi G et al. Allogeneic transplantation for T-cell lymphomas: No difference in outcome between patients allografted up-front and in first chemosensitive relapse. *Hematol Oncol* 2015; 33: Abstract 032.
 40. Corradini P, Dodero A, Zallio F, Caracciolo D, Casini M, Bregni M et al. Graft-versus-lymphoma effect in relapsed peripheral T-cell non-Hodgkin's lymphomas after reduced-intensity conditioning followed by allogeneic transplantation of hematopoietic cells. *J Clin Oncol* 2004; 22:2172-2176.
 41. Feyler S, Prince HM, Pearce R, Towilson K, Nivison-Smith I, Schey S et al. The role of high-dose therapy and stem cell rescue in the management of T-cell malignant lymphomas: a BSBMT and ABMTRR study. *Bone Marrow Transplant* 2007; 40:443-450.
 42. Le Gouill S, Milpied N, Buzyn A, De Latour RP, Vernant JP, Mohty M et al. Graft-versus-lymphoma effect for aggressive T-cell lymphomas in adults: a study by the Société Française de Greffe de Moëlle et de Thérapie Cellulaire. *J Clin Oncol* 2008; 26:2264-2271.
 43. Kyriakou C, Canals C, Finke J, Kobbe G, Harousseau JL, Kolb HJ et al. Allogeneic stem cell transplantation is able to induce long-term remissions in angioimmunoblastic T-cell lymphoma: a retrospective study from the lymphoma working party of the European group for blood and marrow transplantation. *J Clin Oncol* 2009; 27:3951-3958.
 44. Dodero A, Spina F, Narni F, Patriarca F, Cavattoni I, Benedetti F et al. Allogeneic transplantation following a reduced-intensity conditioning regimen in relapsed/refractory peripheral T-cell lymphomas: long-term remissions and response to donor lymphocyte infusions support the role of a graft-versus-lymphoma effect. *Leukemia* 2012; 26:520-526.
 45. Zinzani PL, Venturini F, Stefoni V, Fina M, Pellegrini C, Derenzini E et al. Gemcitabine as single agent in pretreated T-cell lymphoma patients: evaluation of the long-term outcome. *Ann Oncol* 2010; 21:860-863.
 46. Arkenau HT, Chong G, Cunningham D, Watkins D, Sirohi B, Chau I et al. Gemcitabine, cisplatin and methylpred-

- nisolone for the treatment of patients with peripheral T-cell lymphoma: the Royal Marsden Hospital experience. *Haematologica* 2007; 92:271-272.
47. Park BB, Kim WS, Suh C, Shin DY, Kim JA, Kim HG et al. Salvage chemotherapy of gemcitabine, dexamethasone, and cisplatin (GDP) for patients with relapsed or refractory peripheral T-cell lymphomas: a consortium for improving survival of lymphoma (CISL) trial. *Ann Hematol* 2015; 94:1845-1851.
 48. Damaj G, Gressin R, Bouabdallah K, Cartron G, Choufi B, Gyan E et al. Results from a prospective, open-label, phase II trial of bendamustine in refractory or relapsed T-cell lymphomas: the BENTLY trial. *J Clin Oncol* 2013; 31:104-110.
 49. O'Connor OA, Pro B, Pinter-Brown L, Bartlett N, Poplewell L, Coiffier B et al. Pralatrexate in patients with relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma: results from the pivotal PROPEL study. *J Clin Oncol* 2011; 29:1182-1189.
 50. Coiffier B, Pro B, Prince HM, Foss F, Sokol L, Greenwood M et al. Results from a pivotal, open-label, phase II study of romidepsin in relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma after prior systemic therapy. *J Clin Oncol* 2012; 30:631-636.
 51. Coiffier B, Pro B, Prince HM, Foss F, Sokol L, Greenwood M et al. Romidepsin for the treatment of relapsed/refractory peripheral T-cell lymphoma: pivotal study update demonstrates durable responses. *J Hematol Oncol* 2014; 7:11.
 52. O'Connor OA, Horwitz S, Masszi T, Van Hoof A, Brown P, Doorduijn J et al. Belinostat in Patients With Relapsed or Refractory Peripheral T-Cell Lymphoma: Results of the Pivotal Phase II BELIEF (CLN-19) Study. *J Clin Oncol* 2015; 33:2492-2499.
 53. Foss F, Advani R, Duvic M, Hymes KM, Intragumtornchai T, Lekhakula A et al. A Phase II trial of Belinostat (PXD101) in patients with relapsed or refractory peripheral or cutaneous T-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2015; 168:811-819.
 54. Pro B, Advani R, Brice P, Barlett NL, Rosenblatt JD, Illidge T et al. Brentuximab vedotin (SGN-35) in patients with relapsed or refractory systemic anaplastic large-cell lymphoma: results of a phase II study. *J Clin Oncol* 2012; 30:2190-2196.
 55. Pro B, Advani R.H, Brice P, Bartlett NL, Rosenblatt JD, Illidge T et al. Three-year survival results from an ongoing phase2 study of brentuximab vedotin in patients with relapsed or refractory systemic anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 2013; 122:1809 Abstract.
 56. Pro B, Advani R.H, Brice P, Bartlett NL, Rosenblatt JD, Illidge T et al. Four-year survival data from an ongoing pivotal phase 2 study of brentuximab vedotin in patients with relapsed or refractory systemic anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 2014; 124:3095 Abstract.
 57. Sibon D, Morel A, Brière J, Lamant L, Loschi M, Haioun C et al. Long-term outcome of adults with ALCL after the first relapse/progression: A LYSA study. *Hematol Oncol* 2015; 33:100 Abstract.
 58. Bartlett NL, Chen R, Fanale MA, Brice P, Gopal A, Smith SA et al. Retreatment with brentuximab vedotin in patients with CD30-positive hematologic malignancies. *J Hematol Oncol* 2014; 7:24.
 59. Bossard C, Dobay MP, Parrens M, Lamant L, Missiaglia E, Haioun C et al. Immunohistochemistry as a valuable tool to assess CD30 expression in peripheral T-cell lymphomas: high correlation with mRNA levels. *Blood* 2014; 124:2983-2986.
 60. Horwitz SM, Advani RH, Bartlett NL, Jacobsen ED, Sharman JP, O'Connor OA et al. Objective responses in relapsed T-cell lymphomas with single-agent brentuximab vedotin. *Blood* 2014; 123:3095-3100.
 61. Fanale MA, Horwitz SM, Forero-Torres A, Barlett NL, Advani RH, Pro B et al. Brentuximab vedotin in the front-line treatment of patients with CD30+ peripheral T-cell lymphomas: results of a phase I study. *J Clin Oncol* 2014; 32:3137-3143.
 62. Dang NH, Pro B, Hagemester FB, Samaniego F, Jones D, Samuels BI et al. Phase II trial of denileukin diftitox for relapsed/refractory T-cell non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2007; 136:439-447.
 63. Zinzani PL, Bonthapally V, Huebner D, Lutes R, Chi A, Pileri S. Panoptic clinical review of the current and future treatment of relapsed/refractory T-cell lymphomas: Peripheral T-cell lymphomas. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016; 99:214-227.
 64. Enblad G, Hagberg H, Erlanson M, Lundin J, MacDonald AP, Repp R et al. A pilot study of alemtuzumab (anti-CD52 monoclonal antibody) therapy for patients with relapsed or chemotherapy-refractory peripheral T-cell lymphomas. *Blood* 2004; 103:2920-2924.
 65. Αγγελοπούλου Μ, Τσοπρά Ο. Περιφερικά Τ-λεμφώματα μη ειδικού τύπου. *Haema* 2010; 1:42-51.
 66. Safar V, De Leval L, Meignan M, Bachy E, Cartron G, MolesMoreau MP et al. Prospective phase II trial of Lenalidomide in association with CHOP in elderly patients with Angioimmunoblastic T Cell Lymphoma (AITL): interim analysis of a LYSA study. *Haematologica* 2015; 100: Abstract E994.
 67. Gambacorti Passerini C, Farina F, Stasia A, Redaelli S, Ceccon M, Mologni L et al. Crizotinib in advanced, chemoresistant anaplastic lymphoma kinase-positive lymphoma patients. *J Natl Cancer Inst* 2014; 106:djt378.
 68. Friedberg JW, Mahadevan D, Cebula E, Persky D, Lossos I, Agarwal AB et al. Phase II study of alisertib, a selective Aurora A kinase inhibitor, in relapsed and refractory aggressive B- and T-cell non-Hodgkin lymphomas. *J Clin Oncol* 2014; 32:44-50.
 69. Barr PM, Li H, Spier C, Mahadevan D, LeBlanc M, UI Haq M et al. Phase II Intergroup Trial of Alisertib in Relapsed and Refractory Peripheral T-Cell Lymphoma and Transformed Mycosis Fungoides: SWOG 1108. *J Clin Oncol* 2015; 33:2399-2404.
 70. Gibson JF, Foss F, Cooper D, Seropian S, Irizarry D, Barbarotta L et al. Pilot study of sorafenib in relapsed or refractory peripheral and cutaneous T-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2014; 167:141-144

Υπογαμμασφαιριναιμία

ΙΩΑΝΝΗΣ ΚΑΚΚΑΣ

Αιματολόγος, Διευθυντής, Τμήμα Ανοσολογίας–Ιστοσυμβατότητας, Γ.Ν. «Ο Ευαγγελισμός», Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες είναι ένα ετερογενές σύνολο νοσημάτων τα οποία χαρακτηρίζονται από διαφορετικού βαθμού κάθε φορά έλλειμμα, το οποίο μπορεί να αφορά συνθέστερα την ειδική ανοσία και να εντοπίζεται είτε στα Β-λεμφοκύτταρα, είτε στα Τ-λεμφοκύτταρα, είτε και στους δύο προαναφερθέντες υποπληθυσμούς λεμφοκυττάρων. Σπανιότερα, μπορεί να ευθύνεται η μη ειδική ανοσία και πιο συγκεκριμένα τα φαγοκύτταρα (ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα) και οι ανεπάρκειες παραγόντων του συμπληρώματος. Σύμφωνα με την ταξινόμηση της International Union of Immunological Societies (IUIS) του 2004 η οποία επικαιροποιήθηκε το 2009, το 2011 και το 2014, οι πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες κατηγοριοποιούνται σε οκτώ ομάδες ως εξής:

- α) **Ομάδα I:** Συνδυασμένες πρωτοπαθείς ανεπάρκειες των Β και Τ-λεμφοκυττάρων,
- β) **Ομάδα II:** Συγγενή σύνδρομα τα οποία συνοδεύονται από ανεπάρκειες των Β και Τ-λεμφοκυττάρων,
- γ) **Ομάδα III:** Πρωτοπαθείς αντισωματικές ανεπάρκειες,
- δ) **Ομάδα IV:** Διαταραχές της ανοσορρύθμισης,
- ε) **Ομάδα V:** Πρωτοπαθείς λειτουργικές ανεπάρκειες των φαγοκυττάρων (ουδετερόφιλων και μονοκυττάρων),
- στ) **Ομάδα VI:** Διαταραχές της μη ειδικής ανοσιακής απάντησης,
- ζ) **Ομάδα VII:** Αυτοφλεγμονώδη νοσήματα και
- η) **Ομάδα VIII:** Πρωτοπαθείς ανεπάρκειες παραγόντων του συστήματος του συμπληρώματος¹⁻⁴.

Τα προαναφερθέντα ελλείμματα, από τα οποία χαρακτηρίζονται οι πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες,

μπορεί να απαντηθούν και στις περιπτώσεις επίκτητων δευτεροπαθών ανοσοανεπαρκειών⁵⁻¹¹. Πολλά νοσήματα και αρκετές παθολογικές καταστάσεις αποτελούν αίτια επίκτητης δευτεροπαθούς ανοσοανεπάρκειας, ενώ οι θεραπευτικές παρεμβάσεις ίσως αποτελούν πλέον τα σημαντικότερα αίτια δευτεροπαθούς ανοσοανεπάρκειας⁵⁻¹². Εργαστηριακά, τόσο οι πρωτοπαθείς, όσο και οι δευτεροπαθείς ανοσοανεπάρκειες μπορεί να παρουσιάζονται με υπογαμμασφαιριναιμία, εκλεκτικές ανεπάρκειες ανοσοσφαιρινών ή και υποτάξεων της IgG ανοσοσφαιρίνης, καταστολή της ικανότητας ειδικής αντισωματικής απάντησης, απόλυτη ή εκλεκτική λεμφοπενία, καταστολή της ικανότητας απάντησης των Τ-λεμφοκυττάρων έναντι μιτογόνων ή εξωγενών αντιγόνων και καταστολή της ικανότητας φαγοκυττάρωσης⁶⁻¹¹. Από τα προαναφερθέντα, το συχνότερο και σημαντικότερο εύρημα είναι η υπογαμμασφαιριναιμία (με ή χωρίς συνοδό λεμφοπενία). Στη συνέχεια θα επιχειρηθεί μία σύντομη παρουσίαση των σημαντικότερων αιτίων υπογαμμασφαιριναιμίας στους ενήλικες. Αρχικά θα παρουσιαστούν τα σημαντικότερα αίτια δευτεροπαθούς υπογαμμασφαιριναιμίας. Θα ακολουθήσει μία σύντομη παρουσίαση των συχνότερων και σημαντικότερων πρωτοπαθών ανοσοανεπαρκειών των ενηλίκων οι οποίες συνοδεύονται από υπογαμμασφαιριναιμία, δίνοντας έμφαση στην συχνότερη και σημαντικότερη από αυτές, την Κοινή Ποικίλη Ανοσοανεπάρκεια (ΚΠΑ). Τέλος, θα παρουσιαστεί ο αναγκαίος εργαστηριακός έλεγχος για την διερεύνηση της παρουσίας ή όχι υποκείμενης πρωτοπαθούς ανοσοανεπάρκειας με συνοδό υπογαμμασφαιριναιμία (με έμφαση στην ΚΠΑ), αλλά και για την τεκμηρίωση της διάγνωσης της.

Δευτεροπαθής υπογαμμασφαιριναιμία

Οι κύριες ομάδες νοσημάτων στις οποίες περιλαμβάνονται περιπτώσεις ασθενών οι οποίοι είναι πιθανόν να εμφανίσουν δευτεροπαθή υπογαμμασφαιριναιμία είναι: Α) Τα συγγενή σύνδρομα, Β) Τα λοιμώδη νοσήματα, Γ) Τα νεοπλασματικά νοσήματα, Δ) Τα αυτοάνοσα νοσήματα, Ε) Τα νοσήματα που συνοδεύονται από απώλεια λευκώματος. Επίσης, θεραπευτικές παρεμβάσεις (μεταμοσχεύσεις) καθώς και φάρμακα αποτελούν αίτια δευτεροπαθούς υπογαμμασφαιριναιμίας. Τέλος, είναι γνωστή η παροδική υπογαμμασφαιριναιμία των νεογνών^{8,9}.

Συγγενή σύνδρομα

Εκτός από τα συγγενή σύνδρομα τα οποία περιλαμβάνονται στις ταξινομήσεις της IUIS, υπάρχουν και άλλα τα οποία είναι δυνατόν να συνοδεύονται από ανοσολογικά ελλείμματα. Κάποια από αυτά τα συγγενή σύνδρομα είναι δυνατόν να εμφανίσουν υπογαμμασφαιριναιμία. Από αυτά, τα συχνότερα και γνωστότερα είναι το σύνδρομο Down και το σύνδρομο Turner. Από τα σπανιότερα, αξίζει να αναφερθούν το σύνδρομο Dandy-Walker και το σύνδρομο Teacher-Collins⁸.

Λοιμώδη νοσήματα

Από τις ιογενείς λοιμώξεις, η HIV λοίμωξη εκτός από την γνωστή CD4 λεμφοπενία, έχει συσχετιστεί με διαταραχές όλων των συνιστωσών του ανοσιακού συστήματος. Σε αυτές σπάνια περιλαμβάνεται και η υπογαμμασφαιριναιμία. Επίσης, οι λοιμώξεις από EBV και CMV έχουν συσχετιστεί σχετικά σπάνια με CD4 λεμφοπενία και υπογαμμασφαιριναιμία. Τέλος, στη σήψη μπορεί να προκληθεί υπογαμμασφαιριναιμία λόγω κατανάλωσης των ανοσοσφαιρινών^{8,11}.

Νεοπλασματικά νοσήματα

Από την συγκεκριμένη ομάδα νοσημάτων, για την πρόκληση δευτεροπαθούς υπογαμμασφαιριναιμίας ενοχοποιούνται κατά κύριο λόγο οι αιματολογικές κακοήθειες. Τα χαμηλής κακοηθείας λεμφώματα και ιδιαίτερα η Χρόνια Λεμφογενής Λευχαιμία και το Οξώδες Λέμφωμα, είναι γνωστά αίτια βαριάς πολλές φορές υπογαμμασφαιριναιμίας. Το ίδιο ισχύει και για ορισμένες περιπτώσεις Πολλαπλού Μυελώματος (ελαφρών αλυσίδων και μη εκκριτικό) αλλά και Πρωτοπαθούς Ανοσοκυτταρικής Αμυλοείδωσης. Τέλος, πέρα από τις προαναφερθείσες αιματολογικές κακοήθειες, γνωστό αίτιο βαριάς υπογαμμασφαιριναιμίας είναι και

το Θύμωμα. Η υπογαμμασφαιριναιμία στις περιπτώσεις αυτές, δεν αποκαθίσταται μετά την χειρουργική εξαίρεση του όγκου⁶⁻¹¹.

Αυτοάνοσα νοσήματα

Σπάνια κατά τη διάγνωση Συστηματικού Ερυθηματώδους Λύκου (ΣΕΛ), Σκληροδερμίας και Δερματομυοσίτιδας-Πολυμυοσίτιδας μπορεί να παρατηρηθεί υπογαμμασφαιριναιμία⁸⁻¹⁰.

Νοσήματα τα οποία συνοδεύονται από απώλεια λευκώματος

Είναι γνωστό, ότι απώλεια λευκώματος από τον ανθρώπινο οργανισμό μπορεί να συμβεί μέσω δύο κυρίων οδών: των νεφρών και του γαστρεντερικού σωλήνα. Έτσι, υπογαμμασφαιριναιμία λόγω απώλειας λευκώματος παρατηρείται κυρίως σε περιπτώσεις νεφρωσικού συνδρόμου, φλεγμονωδών εντεροπαθειών, εντερικής λεμφαγγειεκτασίας (νόσου Waldman) και γαστροπάθειας με απώλεια λευκώματος (σύνδρομο Menetrier)⁶⁻¹¹. Ο υποσιτισμός, μια κατάσταση η οποία σχετίζεται τόσο με ελαττωμένη πρόσληψη όσο και με αυξημένο καταβολισμό λευκωμάτων, έχει συσχετιστεί και με υπογαμμασφαιριναιμία^{9,10}. Τέλος, τα εκτεταμένα εγκαύματα και τραύματα έχουν συσχετιστεί σπάνια με υπογαμμασφαιριναιμία^{9,10}.

Θεραπευτικές παρεμβάσεις

Οι θεραπευτικές παρεμβάσεις (μεταμοσχεύσεις, φάρμακα) ίσως αποτελούν πλέον τα σημαντικότερα αίτια δευτεροπαθούς υπογαμμασφαιριναιμίας⁶⁻¹².

Οι *Μεταμοσχεύσεις Αιμοποιητικών Κυττάρων (ΜΑΚ)* έχουν συσχετισθεί με διαταραχές όλων των συνιστωσών του ανοσιακού συστήματος. Η αυτόλογη ΜΑΚ (Αυτο-ΜΑΚ) αποτελεί πρώτης ή δεύτερης γραμμής θεραπευτική επιλογή για ασθενείς πάσχοντες από αρκετά αιματολογικά νοσήματα (Πολλαπλούν Μυέλωμα, Νόσος Hodgkin, Non Hodgkin Λεμφώματα). Η αλλογενής ΜΑΚ (Αλλο-ΜΑΚ) αποτελεί θεραπεία ίασης για αρκετές αιματολογικές κακοήθειες, κυρίως για σημαντικό αριθμό Οξείων Λευχαιμιών σε πρώτη ή δεύτερη πλήρη ύφεση. Οι ασθενείς οι οποίοι υποβάλλονται σε ΜΑΚ λόγω του μυελοαφανιστικού σχήματος προετοιμασίας εμφανίζουν βαριά λευκοπενία, η οποία βαθμιαία αποκαθίσταται. Καθυστερεί η αποκατάσταση των CD4 T-λεμφοκυττάρων και των B-λεμφοκυττάρων. Αποτέλεσμα της προαναφερθείσας παρατεταμένης B-λεμφοπενίας είναι η εμφάνιση υπογαμμασφαιριναιμίας, η διάρκεια της οποίας στις

περιπτώσεις των ασθενών οι οποίοι υποβάλλονται σε Αλλο-ΜΑΚ παρατείνεται τόσο λόγω της εντονότερης ανοσοκαταστολής του σχήματος προετοιμασίας, όσο και λόγω της χορήγησης ανοσοκατασταλτικής αγωγής για την αντιμετώπιση είτε της οξείας νόσου του μοσχεύματος κατά του ξενιστή (acute GVHD), είτε της χρόνιας νόσου του μοσχεύματος κατά του ξενιστή (chronic GVHD), είτε και των δύο¹².

Οι ασθενείς οι οποίοι υποβάλλονται σε *μεταμοσχεύσεις οργάνων* (κυρίως νεφρών), λαμβάνουν ανοσοκατασταλτική αγωγή η οποία χορηγείται για την πρόληψη ή την θεραπευτική αντιμετώπιση της απόρριψης του μοσχεύματος. Αυτή η ανοσοκατασταλτική αγωγή έχει συσχετισθεί εκτός από λεμφοπενία και με υπογαμμασφαιριναιμία, για την οποία έχουν ενοχοποιηθεί κυρίως η αζαθειοπρίνη και τα κορτικοειδή⁸⁻¹⁰.

Από τα *φάρμακα*, τα κορτικοειδή μάλλον ήταν τα πρώτα που συσχετίστηκαν με επίκτητη ανοσοανεπάρκεια. Η λεμφοπενία (απόλυτη ή εκλεκτική) και η υπογαμμασφαιριναιμία είναι γνωστές συνέπειες της παρατεταμένης χορήγησης κορτικοειδών. Η χορήγηση μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι του CD20 έχει συσχετισθεί τόσο με Β-λεμφοπενία, όσο και με παρατεταμένη υπογαμμασφαιριναιμία. Σημαντικός αριθμός φαρμάκων έχει συσχετισθεί με δευτεροπαθή υπογαμμασφαιριναιμία, εκλεκτική ανεπάρκεια της IgA ανοσοσφαιρίνης και εκλεκτική ανεπάρκεια υποτάξεων της IgG ανοσοσφαιρίνης. Τέτοια είναι κυρίως φάρμακα που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση συστηματικών-φλεγμονωδών νοσημάτων (σουλφασαλαζίνη, άλατα χρυσού, χλωροκίνη, D-πενικιλλαμίνη, μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη) καθώς και αντιεπιληπτικά (φαινυτοΐνη, καρβαμαζεπίνη, βαλπροϊκό νάτριο)⁶⁻¹¹.

Ηλικία

Είναι γνωστή η παροδική υπογαμμασφαιριναιμία των νεογνών. Συνήθως αποκαθίσταται αυτόματα μέχρι το τρίτο έτος της ζωής τους⁶⁻¹¹.

Από τα προαναφερθέντα, καθίσταται σαφές ότι για τους ασθενείς (ιδιαίτερα τους ενήλικες) οι οποίοι εμφανίζουν υπογαμμασφαιριναιμία, πρωταρχικό μέλημα θα πρέπει να είναι ο αποκλεισμός όλων των πιθανών αιτιών δευτεροπαθούς ανοσοανεπάρκειας.

Πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες

Όπως ήδη αναφέρθηκε, στους ενήλικες διαγιγνώσκονται σχεδόν κατ' αποκλειστικότητα πρωτοπαθείς αντισωματικές ανεπάρκειες (ΚΠΑ, Εκλεκτική Ανεπάρκεια της IgA Ανοσοσφαιρίνης, Εκλεκτική Ανεπάρκεια Υποτάξεων της IgG Ανοσοσφαιρίνης,

Ανεπάρκεια Αντισωματικής Απάντησης), από τις οποίες η συχνότερη κλινικά ενεργός είναι η ΚΠΑ, η οποία παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον κυρίως λόγω της κλινικής της ετερογένειας⁵. Σε ορισμένες περιπτώσεις είναι δυνατόν να απαιτηθεί η διάκριση της ΚΠΑ (**Ομάδα III**, Πρωτοπαθείς αντισωματικές ανεπάρκειες) από άλλες πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες, όπως: α) Η Φυλοσύνδετη Αγαμμασφαιριναιμία (**Ομάδα III**, Πρωτοπαθείς αντισωματικές ανεπάρκειες), β) Η Αντισωματική ανεπάρκεια με αυξημένη IgM ανοσοσφαιρίνη (**Ομάδα I**, Συνδυασμένες πρωτοπαθείς ανεπάρκειες των Β και Τ-λεμφοκυττάρων) και γ) Το Φυλοσύνδετο Λεμφοϋπερπλαστικό Σύνδρομο (**Ομάδα I**, Συνδυασμένες πρωτοπαθείς ανεπάρκειες των Β και Τ-λεμφοκυττάρων)^{6,13}. Στη συνέχεια, θα επιχειρηθεί μία συγκριτικά εκτενής παρουσίαση της ΚΠΑ με έμφαση στο εύρος και στις ιδιαιτερότητες των κλινικών της εκδηλώσεων, ενώ σύντομες θα είναι οι αναφορές στα υπόλοιπα τρία προαναφερθέντα νοσήματα. Στα πολύ σπάνια αίτια υπογαμμασφαιριναιμίας των ενηλίκων περιλαμβάνονται και ορισμένες πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες από την **Ομάδα I** (Συνδυασμένες πρωτοπαθείς ανεπάρκειες των Β και Τ-λεμφοκυττάρων), την **Ομάδα II** (Συγγενή σύνδρομα τα οποία συνοδεύονται από ανεπάρκειες των Β και Τ-λεμφοκυττάρων) και την **Ομάδα VI** (Διαταραχές της μη ειδικής ανοσιακής απάντησης)¹⁴. Οι αναφορές στα συγκεκριμένα νοσήματα θα είναι είτε πολύ σύντομες, είτε ονομαστικές.

Κοινή Ποικίλη Ανοσοανεπάρκεια (ΚΠΑ)

Η συγκεκριμένη κλινική οντότητα χαρακτηρίζεται από υπογαμμασφαιριναιμία η οποία αφορά στο σύνολο των περιπτώσεων την IgG ανοσοσφαιρίνη, στο 70-80% των περιπτώσεων και την IgA ανοσοσφαιρίνη και στο 50% περίπου των περιπτώσεων και την IgM ανοσοσφαιρίνη. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς με ΚΠΑ εμφανίζουν αδυναμία αντισωματικής απάντησης έναντι πολυσακχαριδικών (κυρίως), αλλά και πρωτεϊνικών αντιγόνων^{6,13-17}. Για την τεκμηρίωση της διάγνωσης της ΚΠΑ είναι δυνατόν να απαιτηθεί, πέραν του αποκλεισμού κάθε πιθανού αιτίου δευτεροπαθούς υπογαμμασφαιριναιμίας, η διάκρισή της από άλλες πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες, όπως: α) Η Φυλοσύνδετη Αγαμμασφαιριναιμία, β) Η Αντισωματική Ανεπάρκεια με αυξημένη IgM Ανοσοσφαιρίνη (Hyper-IgM Syndrome) και γ) Φυλοσύνδετο Λεμφοϋπερπλαστικό Σύνδρομο (X-Linked Lymphoproliferative Syndrome)^{6,13}. Η ΚΠΑ είναι η δεύτερη σε συχνότητα πρωτοπαθής αντισωματική ανεπάρκεια, μετά την εκλεκτική ανεπάρκεια της IgA. Ο επιπολασμός της

εκτιμάται σε 1/50.000 περίπου. Σημειώνεται ότι τα επιδημιολογικά στοιχεία, όχι μόνο της ΚΠΑ, αλλά σχεδόν όλων των πρωτοπαθών ανοσοανεπαρκειών θα πρέπει να αντιμετωπίζονται με επιφύλαξη λόγω του σημαντικού βαθμού υποδιάγνωσής τους. Στις περισσότερες των περιπτώσεων (85-90% περίπου) δεν διαπιστώνεται κληρονομική μεταβίβαση^{6,13-17}. Οι υπεύθυνοι αιτιοπαθογενετικοί μηχανισμοί δεν έχουν διευκρινισθεί πλήρως για το σύνολο των ασθενών, παρά μόνο σε κάποιους στους οποίους υπήρχε κληρονομική μεταβίβαση και έγινε έλεγχος για την παρουσία μεταλλάξεων σε συγκεκριμένα γονίδια (CD19, ICOS, TACI, BAFFR, MSH5) τα οποία σχετίζονται με την διαφοροποίηση της Β-Λεμφικής σειράς^{6,18}.

Η έναρξη των κλινικών εκδηλώσεων της νόσου μπορεί να είναι είτε πρώιμη κατά την παιδική ηλικία, είτε όψιμη κατά την ενήλικη ζωή (συνήθως μεταξύ 3ης και 4ης δεκαετίας της ζωής)^{6,15-17}. Εκτιμάται ότι πλέον σε ποσοστό μεγαλύτερο του 50% οι ασθενείς με ΚΠΑ διαγιγνώσκονται κατά την ενήλικη ζωή. Το ενδεχόμενο υποκείμενης ΚΠΑ θα πρέπει να εξετάζεται σε περιπτώσεις ασθενών οι παρουσιάζουν υποτροπιάζουσες ή επίμονες λοιμώξεις του ανώτερου ή κατώτερου αναπνευστικού (ωτίτιδες, παραρρινοκολπίτιδες, βρογχίτιδες, πνευμονίες με υπεύθυνους μικροοργανισμούς συνήθως τον πνευμονιόκοκκο και τον αιμόφιλο) οι οποίες δεν αντιμετωπίζονται πάντοτε ικανοποιητικά με τα συνήθη αντιβιοτικά^{6,15-17}. Επίσης, νέοι ενήλικες με Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) ή και βρογχεκτασίες θα πρέπει να ελέγχονται προς την κατεύθυνση της ΚΠΑ^{6,15-17}. Οι λοιμώξεις του αναπνευστικού αποτελούν τις συχνότερες κλινικές εκδηλώσεις (70% περίπου) της ΚΠΑ και σε ένα σημαντικό ποσοστό (30% περίπου) τις μοναδικές^{6,15-17}. Τέλος, σε ότι αφορά το αναπνευστικό, δεν είναι σπάνια η ανάδειξη της παρουσίας διηθημάτων, με τις απλές ακτινογραφίες θώρακος συνήθως. Τα συγκεκριμένα διηθήματα συνήθως αντιστοιχούν σε μη ειδικά κοκκίωματα (ανάγκη διαφορικής διάγνωσης από σαρκοείδωση), ενώ σπανιότερα αντιπροσωπεύουν μη κακοήθεις λεμφοκυτταρικές διηθήσεις^{6,15-17}. Επίσης, θα πρέπει να αναφερθεί και η σημαντική πιθανότητα διάγνωσης ΚΠΑ (10-40% των περιπτώσεων) στα πλαίσια εργαστηριακής διερεύνησης χρόνιων διαρροϊκών συνδρόμων συνήθως λοιμώδους αιτιολογίας (Salmonella, Shigella, Campylobacter, Cryptosporidium, Giardia Lamblia)^{6,15-17}. Σε ορισμένες περιπτώσεις χρόνιων διαρροϊκών συνδρόμων η διαφορική διάγνωση μεταξύ ΚΠΑ και νοσημάτων όπως η Νόσος Crohn, η Ελκώδης Κολίτιδα και η Κοιλιοκάκη εάν αυτά συνοδεύονται από υπογαμμασφαιριναιμία, είναι εξαιρετικά δύσκολη^{6,15-17}. Σχετικά συχνή είναι

και η συνύπαρξη ΚΠΑ και οζώδους λεμφικής υπερπλασίας του λεπτού εντέρου^{6,15-17}. Λιγότερο συχνή είναι η συνύπαρξη ΚΠΑ και ατροφικής γαστρίτιδας, με ή χωρίς συνοδό Μεγαλοβλαστική Αναιμία^{6,15-17}. Η ηπατική συμμετοχή δεν είναι ιδιαίτερα συχνή στην ΚΠΑ και συνήθως σχετίζεται με: α) Παρουσία μη ειδικών κοκκιωμάτων, β) Παρουσία όζων στα πλαίσια Οζώδους Αναγεννητικής Ηπατίτιδας και γ) Παρουσία ιστολογικής εικόνας συμβατής με Πρωτοπαθή Χολική Κίρρωση^{6,17}.

Οι αιματολογικές εκδηλώσεις της ΚΠΑ είναι αρκετά συχνές. Σπληνομεγαλία αναφέρεται στο 30% περίπου των περιπτώσεων ΚΠΑ, ενώ λεμφαδενοπάθεια στο 10-20% περίπου^{6,16,17}. Οφείλονται στην ανάπτυξη είτε μη κακοήθων λεμφοκυτταρικών διηθήσεων, είτε κοκκιωμάτων. Σε ότι αφορά τις αυτοάνοσες κυτταροπενίες, εμφάνιση Ιδιοπαθούς Θρομβοπενικής Πορφύρας αναφέρεται στο 10-30% περίπου των περιπτώσεων ΚΠΑ^{6,16,17}. Σπανιότερη είναι η εμφάνιση Αυτοάνοσης Αιμολυτικής Αναιμίας, Συνδρόμου Evans και Αυτοάνοσης Ουδετεροπενίας^{6,16,17}. Σε ότι αφορά τις λοιπές αυτοάνοσες εκδηλώσεις, κατά την παρακολούθηση ασθενών με ΚΠΑ έχει αναφερθεί η εμφάνιση:

- α) Αυτοάνοσης Θυρεοειδίτιδας,
- β) Μη Ειδικής Αρθρίτιδας με κλινική εικόνα παρόμοια με αυτή της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας,
- γ) ΣΕΛ και
- δ) Δερματομυοσίτιδας-Πολυμυοσίτιδας^{6,16,17}.

Τέλος, σε ότι αφορά τις σπανιότερες κλινικές εκδηλώσεις τις ΚΠΑ, αξίζει να επισημανθεί η παρουσία: α) Ατοπικών (αλλεργικών) εκδηλώσεων, β) Λοιμώξεων και εκφυλιστικών νοσημάτων του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος, γ) Ουρολοιμώξεων και δ) Ευκαιριακών λοιμώξεων^{6,16,17}.

Οι ασθενείς με ΚΠΑ εμφανίζουν σε αυξημένη συχνότητα νεοπλασμάτα του γαστρεντερικού συστήματος (κυρίως αδενοκαρκίνωμα του στομάχου) και λεμφώματα (ιδιαίτερα του εντέρου)^{6,16,17}. Εκτιμάται ότι στους ασθενείς με ΚΠΑ, η συχνότητα εμφάνισης αδενοκαρκινώματος του στομάχου είναι περίπου 50 φορές μεγαλύτερη και η συχνότητα εμφάνισης λεμφωμάτων περίπου 30 φορές μεγαλύτερη από αυτή του γενικού πληθυσμού^{16,17}. Σε ότι αφορά το προσδόκιμο επιβίωσης των ασθενών με ΚΠΑ, από την ανάλυση των αποτελεσμάτων δύο σχετικά πρόσφατα δημοσιευμένων μεγάλων αναδρομικών μελετών, προέκυψε ότι οι ασθενείς με ΚΠΑ οι οποίοι εμφανίζουν μόνο λοιμώξεις, έχουν μεγαλύτερη συνολική επιβίωση συγκριτικά με αυτούς οι οποίοι εμφανίζουν (και) κάποια από τις υπόλοιπες κλινικές εκδηλώσεις της ΚΠΑ^{19,20}. Η στρατηγική της θεραπευτικής αντιμετώπισης των ασθενών με ΚΠΑ δεν θα πρέπει να εξαντλείται μόνο

στην αγωγή υποκατάστασης με ανοσοσφαιρίνη (χορηγούμενη ενδοφλέβια ή υποδόρια), αλλά να στοχεύει και: α) Στην αποτελεσματική αντιμετώπιση των λοιμώξεων και β) Στη συστηματική παρακολούθηση των ασθενών προκειμένου να διαγνωσθούν όσο πιο έγκαιρα γίνεται λεμφώματα και νεοπλασμάτα του γαστρεντερικού.

Φυλοσύνδετη Αγαμμασφαιριναιμία (X-Linked Agammaglobulinemia, XLA, Bruton's Disease)

Πρόκειται για φυλοσύνδετη διαταραχή, η οποία εμφανίζεται κατά την παιδική ηλικία και χαρακτηρίζεται από εκσεσημασμένη ανεπάρκεια ή και πλήρη απουσία όλων των τάξεων των ανοσοσφαιρινών. Η βαριά αυτή υπογαμμασφαιριναιμία οφείλεται σε αναστολή της διαδικασίας ωρίμανσης των προγονικών κυττάρων της Β-λεμφικής σειράς. Για το λόγο αυτό χαρακτηρίζεται και από εκσεσημασμένη ελάττωση (μέχρι πλήρους απουσίας) των κυκλοφορούντων Β-λεμφοκυττάρων. Το συγκεκριμένο σύνδρομο οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου το οποίο ευθύνεται για την σύνθεση της τυροσινικής κινάσης Bruton (Btk). Η Btk είναι πρωτεΐνη εμπλεκόμενη στην οδό μεταγωγής σήματος των Β-λεμφοκυττάρων μετά τη διέγερση του υποδοχέα τους. Οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου εμφανίζονται συνήθως μετά τον 6^ο μήνα της ζωής και περιλαμβάνουν κατά κύριο λόγο βαριές λοιμώξεις του ανώτερου και κατώτερου αναπνευστικού, ενώ σπάνια όπως ήδη αναφέρθηκε, η συγκεκριμένη νόσος μπορεί να εμφανιστεί και σε ενήλικες με κλινική εικόνα συμβατή με αυτή της ΚΠΑ. Η θεραπευτική αντιμετώπιση της XLA, πέρα από την επιτυχή αντιμετώπιση των λοιμώξεων, περιλαμβάνει κυρίως την αγωγή υποκατάστασης με χορήγηση ανοσοσφαιρίνης (ενδοφλέβια ή υποδόρια)^{13,21,22}.

Αντισωματική ανεπάρκεια με αυξημένη IgM ανοσοσφαιρίνη (Hyper-IgM Syndrome, HIgM)

Χαρακτηρίζεται από αυξημένη ή φυσιολογική τιμή της IgM ανοσοσφαιρίνης, συνδυαζόμενη με ανεπάρκεια των IgG και IgA ανοσοσφαιρινών. Στα 2/3 περίπου των περιπτώσεων πρόκειται για φυλοσύνδετη διαταραχή και οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου το οποίο ευθύνεται για τη σύνθεση του CD40L. Το συγκεκριμένο μόριο εκφράζεται στην επιφάνεια των CD4 T-λεμφοκυττάρων και η σύνδεσή του με το CD40, το οποίο εκφράζεται στην επιφάνεια των Β-λεμφοκυττάρων, είναι απαραίτητη για τη μετατροπή του ιστύπου των ανοσοσφαιρινών. Στο υπόλοιπο 1/3 περίπου των περιπτώσεων HIgM

συνδρόμου διαπιστώνεται αυτοσωματική υπολειπόμενη κληρονομική μεταβίβαση. Στα περιστατικά αυτά, έχουν ταυτοποιηθεί μεταλλάξεις σε γονίδια τα οποία κωδικοποιούν: 1) Το μόριο CD40, 2) Το μόριο AID και 3) Το μόριο NEMO. Οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου περιλαμβάνουν κυρίως λοιμώξεις του αναπνευστικού από πυογόνους κόκκους, αλλά και ευκαιριακές λοιμώξεις αποδιδόμενες σε κρυπτόκοκκο, Pn. Carinii κ.λπ. Στο συγκεκριμένο σύνδρομο αναφέρεται αυξημένη επίπτωση αυτοανόσων νοσημάτων και κακοηθειών. Η θεραπευτική αντιμετώπιση, πέρα από την επιτυχή αντιμετώπιση των λοιμώξεων, περιλαμβάνει και την αγωγή υποκατάστασης με χορήγηση ανοσοσφαιρίνης (ενδοφλέβια ή υποδόρια)^{13,23-25}.

Φυλοσύνδετο Λεμφοϋπερπλαστικό Σύνδρομο (X-Linked Lymphoproliferative Syndrome, XLP)

Η αιτιοπαθογένεια του συγκεκριμένου συνδρόμου αποδίδεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου του οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη SAP, η οποία λειτουργεί σαν αναστολέας της πρωτεΐνης SLAM (ενεργοποιητή της οδού μεταγωγής σήματος, τόσο των Β όσο και των Τ-λεμφοκυττάρων). Οι ασθενείς, φορείς της προαναφερθείσας διαταραχής, παραμένουν χωρίς προβλήματα μέχρι να προσβληθούν από τον EBV. Συνήθως εμφανίζουν βαρύ σύνδρομο του τύπου της λοιμώδους μονοπυρηνώσεως, με σημαντική θνητότητα λόγω ηπατικής ανεπάρκειας. Λιγότερο συχνά, εμφανίζουν υπογαμμασφαιριναιμία, πανκυτταροπενία στα πλαίσια απλαστικού συνδρόμου ή λεμφώματα σχετιζόμενα με τον EBV. Η παρουσία στα πλαίσια του συγκεκριμένου συνδρόμου υπογαμμασφαιριναιμίας, καθιστά επιβεβλημένη την διαφορική του διάγνωση από την ΚΠΑ. Η μόνη θεραπεία ίσσεως για τους προαναφερθέντες ασθενείς είναι η Αλλο-ΜΑΚ^{13,26}.

Άλλες συνδυασμένες πρωτοπαθείς ανεπάρκειες των Β και Τ-λεμφοκυττάρων (Ομάδα Ι)

Πέρα από τις περιπτώσεις HIgM και XLP, ακόμη σπανιότερα κατά την ενήλικη ζωή είναι δυνατόν να διαγνωστούν ασθενείς με συνδυασμένη μικτή ανεπάρκεια Τ και Β-λεμφοκυττάρων (Severe Combined Immunodeficiency, SCID) η οποία οφείλεται σε μερική έλλειψη του ενζύμου απαμινάση της αδενοσίνης (ADA) και χαρακτηρίζεται από βαριά λεμφοπενία και βαθμιαία επιδεινούμενη υπογαμμασφαιριναιμία^{14,27,28}. Οι συνδυασμένες μικτές ανεπάρκειες Τ και Β-λεμφοκυττάρων (Severe Combined Immunodeficiencies, SCID) περιλαμβάνουν ένα σημαντικό αριθμό συνδρόμων με φυλοσύνδετη ή αυτοσωματική υπολειπόμενη κληρο-

νομική μεταβίβαση^{14,27,28}. Οι κλινικές εκδηλώσεις στις περιπτώσεις SCID αρχίζουν νωρίς (συνήθως πριν τον 6^ο μήνα της ζωής) και αφορούν σοβαρές λοιμώξεις, κυρίως ευκαιριακές αλλά και ιογενείς/βακτηριδιακές λοιμώξεις του αναπνευστικού ή του γαστρεντερικού από κοινά παθογόνα^{14,27,28}. Η αιτιοπαθογένειά τους είναι σχεδόν πλήρως διευκρινισμένη. Έχουν ενοχοποιηθεί κυρίως: 1) Μεταλλάξεις στο γονίδιο της γ-αλυσίδας του συμπλέγματος του υποδοχέα των Il-2, Il-4, Il-7, Il-9, Il-15 και Il-21, 2) Μεταλλάξεις στο γονίδιο της Jak-3 τυροσινικής κινάσης, 3) Μεταλλάξεις στο γονίδιο της α-αλυσίδας του συμπλέγματος του υποδοχέα της Il-7, 4) Ανεπάρκεια της Πουρινικής Νουκλεοτιδικής Φωσφορυλάσης (PNP), 5) Μεταλλάξεις των γονιδίων RAG-1 και 2, τα οποία ελέγχουν τις αναδιατάξεις των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών και των υποδοχέων των T-λεμφοκυττάρων, 6) Αδυναμία σύνθεσης της απαμινάσης της αδενosίνης (ADA). Τα περισσότερα από τα σύνδρομα SCID αντιμετωπίζονται θεραπευτικά με Αλλο-ΜΑΚ, ενώ σε κάποια από αυτά κερδίζει έδαφος η γονιδιακή θεραπεία^{14,27,28}.

Συγγενή σύνδρομα τα οποία συνοδεύονται από ανεπάρκειες των Β και Τ-λεμφοκυττάρων (Ομάδα II)

Από τα συγκεκριμένα σύνδρομα, ορισμένα μπορεί να συνοδεύονται από μικρότερου ή μεγαλύτερου βαθμού υπογαμμασφαιριναιμία. Από αυτά, τα γνωστότερα και σημαντικότερα είναι τα ακόλουθα: Α) Το Σύνδρομο Wiskott-Aldrich. Η αιτιοπαθογένειά του αποδίδεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου το οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη WASP, η οποία συμμετέχει στην ενδοκυττάρια οδό μεταγωγής σήματος. Η κληρονομική μεταβίβαση είναι φυλοσύνδετη¹⁴. Β) Η Αταξία-Τηλαγγειεκτασία. Αιτιοπαθογενετικά αποδίδεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου το οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη ATM, η οποία συμμετέχει στη διαδικασία της μίτωσης. Η κληρονομική μεταβίβαση είναι αυτοσωματική υπολειπόμενη¹⁴. Γ) Το Σύνδρομο Di George. Οφείλεται σε συγγενή ανεπάρκεια του θύμου. Η κληρονομική μεταβίβαση αυτού του συνδρόμου είναι συνήθως επικρατούσα αυτοσωματική¹⁴. Από τα σπανιότερα σύνδρομα της συγκεκριμένης ομάδας αξίζει να αναφερθούν: Α) Το Σύνδρομο Nijmegen, Β) Το Σύνδρομο Bloom, Γ) Το Σύνδρομο ICF (Immunodeficiency, centromeric instability and abnormal facies)¹⁴.

Διαταραχές της μη ειδικής ανοσιακής απάντησης (Ομάδα VI)

Από τη συγκεκριμένη ομάδα νοσημάτων αξίζει να

αναφερθεί το σύνδρομο WHIM (Warts, Hypogammaglobulinemia, Infection, Myelokathexis), το οποίο χαρακτηρίζεται εκτός των άλλων και από υπογαμμασφαιριναιμία. Αξίζει να σημειωθεί ότι η κληρονομική μεταβίβαση του συγκεκριμένου συνδρόμου είναι επικρατούσα αυτοσωματική¹⁴.

Εργαστηριακός έλεγχος

Όπως ήδη αναφέρθηκε, πρωταρχικό μέλημα κατά την διαγνωστική προσέγγιση ενός ασθενούς με υπογαμμασφαιριναιμία θα πρέπει να είναι ο αποκλεισμός όλων των πιθανών αιτιών δευτεροπαθούς ανοσοανεπάρκειας. Στη συνέχεια, θα πρέπει να διερευνηθεί το ενδεχόμενο υποκείμενης πρωτοπαθούς ανοσοανεπάρκειας. Επειδή στους ενήλικες διαγιγνώσκονται σχεδόν αποκλειστικά πρωτοπαθείς αντισωματικές ανεπάρκειες με κύριο εκπρόσωπο την ΚΠΑ, θα παρουσιαστεί ο αναγκαίος εργαστηριακός έλεγχος για την διερεύνηση της παρουσίας της αλλά και για την τεκμηρίωση της διάγνωσής της. Ο συγκεκριμένος εργαστηριακός έλεγχος περιλαμβάνει τα ακόλουθα:

- Α) Ηλεκτροφόρηση και ανοσοκαθήλωση πρωτεϊνών ορού, ποσοτικό προσδιορισμό ανοσοσφαιρινών, προσδιορισμό του τίτλου των αντί-Α και αντί-Β ισοαιμοσυγκολλητινών, έλεγχο ικανότητας αντισωματικής απάντησης των ασθενών έναντι πρωτεϊνικών και πολυσακχαριδικών αντιγόνων^{6,16,17}.
- Β) Προσδιορισμό του απόλυτου αριθμού του συνόλου των λεμφοκυττάρων. Μέτρηση των απολύτων τιμών του Β, Τ και ΝΚ λεμφοκυττάρων μετά από σήμανσή τους με μονοκλωνικά αντισώματα (CD19, CD3 και CD16/CD56) με την τεχνική της κυτταρομετρίας ροής. Επίσης έλεγχο υποπληθυσμών Τ και Β λεμφοκυττάρων [CD4(+), CD8(+), CD4(+)/CD45RO(+), CD4(+)/CD45RA(+), CD19(+)/CD27(+/-), CD19(+)/CD21(+/-)] με την χρήση της ίδιας τεχνικής. Τέλος, έλεγχο της παρουσίας ή της απουσίας του CD40L (CD154) με τη χρήση της ίδιας τεχνικής^{6,16,17}.
- Γ) Ανίχνευση της παρουσίας ή απουσίας συγκεκριμένων πρωτεϊνών (BtK, SAP) με την τεχνική Western blot, βάσει της κατεύθυνσης που μας δίνουν ευρήματα του λοιπού εργαστηριακού ελέγχου^{6,16,17}.
- Δ) Έλεγχος για την παρουσία ή απουσία μεταλλάξεων σε συγκεκριμένα γονίδια (BtK, SH2D1A, CD40L) με μοριακές τεχνικές, βάσει των ενδείξεων που έχουμε από τον συνδυασμό λοιπών εργαστηριακών ευρημάτων και πιθανώς αποτελεσμάτων ελέγχου για την παρουσία ή απουσία συγκεκριμένων πρωτεϊνών με Western blot. Ο προαναφερθείς έλεγχος συμβάλει στην διάκρισή της ΚΠΑ από άλλες πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες (Φυλοσύνδετη

Αγαμμασφαιριναίμια, Αντισωματική ανεπάρκεια με αυξημένη IgM ανοσοσφαιρίνη και Φυλοσύνδετο Λεμφοϋπερπλαστικό Σύνδρομο) εφόσον αυτό κρίνεται αναγκαίο^{6,16-18}.

Συμπεράσματα

Από τα προαναφερθέντα, σαφώς προκύπτει ότι πρωταρχικό μέλημα κατά τη διαγνωστική προσέγγιση ενός ασθενούς με υπογαμμασφαιριναίμια θα πρέπει να είναι ο αποκλεισμός όλων των πιθανών αιτιών δευτεροπαθούς ανοσοανεπάρκειας. Στη συνέχεια, θα πρέπει να διερευνηθεί το ενδεχόμενο υποκείμενης πρωτοπαθούς ανοσοανεπάρκειας με συνοδό υπογαμμασφαιριναίμια. Όπως είναι γνωστό, στη συντριπτική πλειοψηφία των περιπτώσεων οι πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες διαγιγνώσκονται κατά την παιδική ηλικία. Μικρός αριθμός περιπτώσεων πρωτοπαθών ανοσοανεπάρκειών με συνοδό υπογαμμασφαιριναίμια διαγιγνώσκονται κατά την ενήλικη ζωή. Πρόκειται σχεδόν αποκλειστικά για πρωτοπαθείς αντισωματικές ανεπάρκειες, από τις οποίες το μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η Κοινή Ποικίλη Ανοσοανεπάρκεια, κυρίως λόγω της κλινικής της ετερογένειας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Notarangelo L, Casanova JL, Fischer A, Puck J, Rosen F, Seger R et al. Primary Immunodeficiency Diseases: An Update. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114: 677-687.
- Casanova JL, Chapel H, Conley ME, Cunningham-Rundles C, Etzioni, Hammartom L et al. Primary immunodeficiencies: 2009 update. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:1161-78.
- Al-Hertz W, Bousfiha A, Casanova J-L, Chapel H, Conley ME, Cunningham-Rundles C et al. Primary Immunodeficiency Diseases: An Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency. *Front Immunol* 2011;2:1-26.
- Al-Hertz W, Bousfiha A, Casanova J-L, Chatila T, Conley ME, Cunningham-Rundles C et al. Primary Immunodeficiency Diseases: An Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency. *Front Immunol* 2014;5:1-33.
- Ress S. Immunodeficiency Diseases presenting in adults-Diagnosis and Management. *Curr Allergy Clin Immunol* 2008;21:1-7.
- Σπελέτας Μ, Γερμενής Α. Πρωτοπαθείς αντισωματικές ανεπάρκειες στους ενήλικες - Σύγχρονη κλινική προσέγγιση. *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής* 2013;30:420-35.
- Roberts R, Siehm R. *Clinical Immunology*. In Parslow T, Stites D, Terr A, Imboden J (Editors): *Medical Immunology*, 10th Edition, p: 299-697, McGraw-Hill, New York, 2001.
- Spickett G. Secondary Immunodeficiency. In Spickett G (Editor): *Oxford Handbook of Clinical Immunology*, 3rd Edition, p: 81-117, Oxford University Press, New York, 2013.
- Κάκκας Ι. Πρωτοπαθείς και Δευτεροπαθείς Ανοσοανεπάρκειες, *Νοσοκομειακά Χρονικά* 2003, 65(Συμπλ):148-54.
- Jaffe E, Lejtenyi C, Noya F, Mazer B. Secondary Hypogammaglobulinemia. *Immunol Allergy Clin North Am* 2001;21:141-63.
- Rose ME, Lang DM. Evaluating and managing hypogammaglobulinemia, *Cleve Clin J Med* 2006;73:133-44.
- Toubert A. Immune reconstitution after allogeneic HSCT. In Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Maszi T (Editors): *Haematopoietic Stem Cell Transplantation*, 6th Edition, p. 234-45, ESH, Paris, 2008.
- Buckley R. Primary Immunodeficiency Diseases due to defects in lymphocytes. *N Engl J Med* 2000;343:1313-24.
- Spickett G. Primary Immunodeficiency. In Spickett G (Editor): *Oxford Handbook of Clinical Immunology*, 3rd Edition, p: 3-79, Oxford University Press, New York, 2013.
- Spickett G, Farrant J, North M, Zhang J, Morgan L, Webster D. Common Variable Immunodeficiency: How many diseases? *Immunol Today* 1997;18:325-8.
- Cunningham-Rundles C, Bodian C. Common Variable Immunodeficiency: Clinical and immunological features of 248 patients, *Clin Immunol* 1999;92:34-48.
- Cunningham-Rundles C. The many faces of Common Variable Immunodeficiency. In *Hematology 2012*, American Society of Hematology Educational Program, p. 301-5.
- Conley ME. Genetics of hypogammaglobulinemia: What do we really know? *Curr Opin Immunol* 2009;21:466-71.
- Chapel H, Lucas M, Lee M, Bjorcander J, Webster D, Grimbacher B et al. Common Variable Immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes, *Blood* 2008;112:277-86.
- Resnick E, Moshier E, Godbold J, Cunningham-Rundles C. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades, *Blood* 2012;119:1650-7.
- Conley M, Rother J, Minegishi Y. X-linked agammaglobulinemia, *Clin Rev Allergy Immunol* 2000;19:183-204.
- Stewart D, Tian L, Nelson D. A case of X-linked agammaglobulinemia diagnosed in adulthood. *Clin Immunol* 2001;99:94-9.
- Notarangelo LD, Hayward AR: X-linked Immunodeficiency with hyper-IgM (XHIM), *Clin Exp Immunol* 2000;120:399-405.
- Lougaris V, Badolato R, Ferrari S, Plebani A. Hyper IgM syndrome due to CD40 deficiency: clinical, molecular and immunological features, *Immunol Rev* 2005;203:48-66.
- Durandy A, Revy P, Imai K, Fischer A. Hyper IgM syndromes caused by intrinsic B-lymphocyte defects, *Immunol Rev* 2005;203:67-79.
- Nelson PL, Terhorst C. X-linked lymphoproliferative

- syndrome, Clin Exp Immunol 2000;122:291-5.
27. Fisher A. Severe Combined Immunodeficiencies (SCID), Clin Exp Immunol 2000;122:143-9.
28. Fischer A, Le Deist F, Hacein-Bey-Abina S, Andre-

Schmutz I, De Saint Basile G, De Villartay JP et al. Severe Combined Immunodeficiency, A model disease for molecular immunology and therapy. Immunol Rev 2005;203:98-109.

Υπερφερριτιναιμία

ANNA ΚΙΟΥΜΗ, ΣΜΑΡΑΓΔΑ ΕΥΦΡΑΙΜΙΔΟΥ, ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ

Αιματολογικό Τμήμα, Γ.Ν.Θ. Παπαγεωργίου

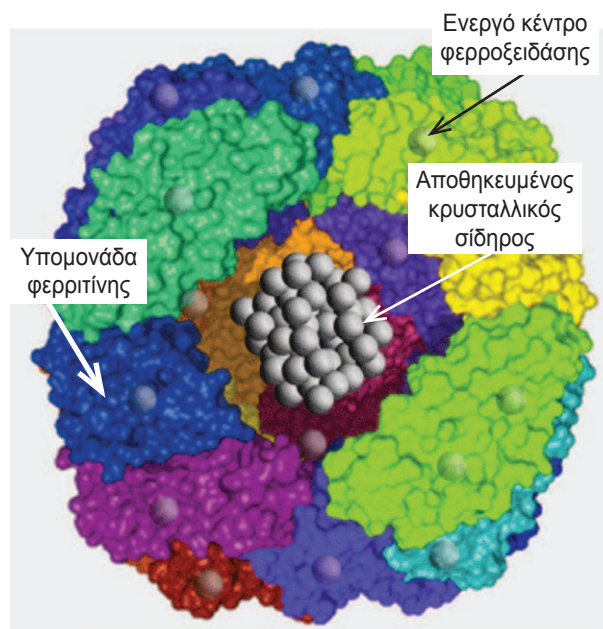
Φερριτίνη

Η φερριτίνη διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση του σιδήρου, καθώς αποτελεί την κύρια ενδοκυττάρια μορφή αποθήκευσής του. Είναι παρούσα σε όλους τους κυτταρικούς τύπους, κυρίως όμως στα ηπατοκύτταρα, στα εντεροκύτταρα και στα δικτυοενδοθηλιακά μακροφάγα.

Η φερριτίνη των ιστών είναι μια πολύ μεγάλη πρωτεΐνη (450 KDa) με σφαιρικό κέλυφος και μία κεντρική κοιλότητα, όπου μπορούν να αποθηκευτούν έως 4500 άτομα σιδήρου (εικόνα 1). Είναι ένα πολυμερές που αποτελείται από 24 υπομονάδες, τύπου H (Heavy, 21KDa, χρωμόσωμα 11) και τύπου L (Light, 19 KDa, χρωμόσωμα 19) που συνδυάζονται σε διαφορετικές αναλογίες σε κάθε ιστό. Η αλληλουχία και η δομή των δύο αυτών υπομονάδων συντηρήθηκε αναλλοίωτη κατά τη διάρκεια της εξέλιξης από τους απλούς οργανισμούς έως τον άνθρωπο, γεγονός που υποδεικνύει τη σημαντικότητα του ρόλου τους¹. Από τις δύο, η υπομονάδα H διαθέτει επιπλέον και δραστηριότητα φερροξειδάσης μέσω της οποίας ο Fe^{2+} οξειδώνεται στην λιγότερο τοξική μορφή Fe^{3+} , η οποία και αποθηκεύεται². Μετάλλαξη στη μη κωδικοποιό περιοχή του γονιδίου της L υπομονάδας που ρυθμίζει την έκφρασή του, οδηγεί στη συνεχή παραγωγή L υπομονάδων ανεξάρτητα από τη διαθεσιμότητα σιδήρου. Τα υψηλά επίπεδα φερριτίνης στην περίπτωση αυτή δεν συνοδεύονται από υπερφόρτωση με σίδηρο και η κλινική εικόνα που παρατηρείται οφείλεται πιθανώς στην υπερβολική παραγωγή φερριτίνης μέσα στις ίνες του φακού του οφθαλμού³. Η κατάσταση, γνωστή και ως σύνδρομο υπερφερριτιναιμίας – καταρράκτη, είναι καλοήγητος, καθώς εκτός από το πρώιμο οφθαλμιατρικό

χειρουργείο που ενδεχομένως χρειαστεί, δεν απαιτεί καμία άλλη θεραπευτική παρέμβαση¹.

Σε φυσιολογικές συνθήκες, το mRNA της φερριτίνης δεσμεύεται από πρωτεΐνες ρύθμισης σιδήρου (IRP). Σε περίπτωση υπερφόρτωσης σιδήρου όμως, ο μηχανισμός αυτός καταστέλλεται και αυξάνεται η σύνθεσή της⁶. Επιπλέον, η παραγωγή φερριτίνης ρυθμίζεται μέσω ενεργοποίησης από το σηματοδοτικό μονοπάτι της ινσουλίνης, το οποίο κινητοποιείται από



Εικόνα 1. Το κέλυφος της φερριτίνης (δύο υπομονάδες έχουν αφαιρεθεί για να φανεί η εσωτερική κοιλότητα) [χρήση εικόνας με άδεια από⁴, δεδομένα δομής από⁵].

αυξημένο ενδοκυτταρικό stress⁷. Η συχνή συνύπαρξη του συνδρόμου αντίστασης στην ινσουλίνη και της ανεξήγητης υπερφόρτωσης σιδήρου στο ήπαρ, ενισχύει τα ερευνητικά δεδομένα που υποστηρίζουν ότι η ινσουλίνη δρα ενεργοποιώντας την αύξηση της πρόσληψης σιδήρου από τα κύτταρα μέσω αύξησης του αριθμού των υποδοχέων τρανσφερίνης στην κυτταρική μεμβράνη⁸⁻⁹.

Τέλος, αύξηση της ηπατικής παραγωγής της μπορεί να προκληθεί στα πλαίσια αντίδρασης οξείας φάσης, πυροδοτούμενη από κυτταροκίνες όπως ο TNF-α και η ιντερλευκίνη 1 (IL-1)².

Η φερριτίνη που κυκλοφορεί στον ορό εκκρίνεται από όλα τα κύτταρα που παράγουν φερριτίνη, αποτελείται κυρίως από L υπομονάδες, διαθέτει φτωχή περιεκτικότητα σε σίδηρο και είναι σε μεγάλο ποσοστό (50-80%) γλυκοζυλιωμένη, καθώς προστίθενται σε αυτή πολυσακχαριδικές ομάδες κατά την έκκριση από τους διάφορους ιστούς². Σε φυσιολογική κατάσταση (steady state) η φερριτίνη του ορού αντανakλά τις συνολικές αποθήκες σιδήρου του οργανισμού με 1ng/ml μετρούμενης φερριτίνης να αντιστοιχεί περίπου σε 10 mg αποθηκευμένου σιδήρου¹.

Όταν η ποσότητα σιδήρου στον οργανισμό αυξάνεται, κορέννυται η ικανότητα ασφαλούς μεταφοράς του με την τρανσφερίνη του πλάσματος και αυξάνεται ο μη-τρανσφερρινικός σίδηρος (NTBI-non transferrin bound iron), που είναι συνδεδεμένος με άλλα μόρια. Τα σύμπλοκα αυτά εισέρχονται στα κύτταρα του ήπατος, της καρδιάς και των ενδοκρινών αδένων και συμμετέχουν στη δημιουργία ελευθέρων ριζών οξυγόνου, που προκαλούν κυτταρική νέκρωση – ιστική βλάβη, φλεγμονή και ίνωση¹⁰.

Υπερφερριταϊμία: Το εύρημα

Η μέτρηση της φερριτίνης ορού είναι μια από τις εργαστηριακές εξετάσεις που παραγγέλλονται συχνά τόσο στην τριτοβάθμια περίθαλψη όσο και από τους γιατρούς της πρωτοβάθμιας φροντίδας υγείας, ακόμα και σε ασυμπτωματικά άτομα. Ο συνήθης στόχος είναι η εκτίμηση της επάρκειας των αποθεμάτων σιδήρου του οργανισμού. Η ανεύρεση χαμηλής τιμής είναι ευαίσθητος και ειδικός δείκτης για την ανεπάρκεια σιδήρου, ενώ η φυσιολογική τιμή αποκλείει την υπερφόρτωση με σίδηρο. Η υπερφερριταϊμία όμως μπορεί είτε να συνδέεται με καταστάσεις υπερφόρτωσης με σίδηρο (γενετικές ή επίκτητες), είτε ως πρωτεΐνη οξείας φάσης να συνδέεται με πληθώρα υποκείμενων νοσημάτων. Σε μεγάλη μελέτη σε πολυφυλετικό πληθυσμό, το ποσοστό της υπερφερριταϊμίας κυμάνθηκε από 5,9% σε άτομα της λευκής έως 19% σε άτομα της

ασιατικής φυλής¹¹.

Υπολογίζεται ότι μόνο στο 10% των περιπτώσεων η υπερφερριταϊμία οφείλεται σε πραγματική υπερφόρτωση με σίδηρο¹² και σε ακόμη μικρότερο ποσοστό, διαφορετικό σε διάφορους πληθυσμούς, σε κληρονομική αιμοχρωμάτωση. Ο κλινικός γιατρός οφείλει να αναγνωρίσει έγκαιρα τις περιπτώσεις υπερφόρτωσης με σίδηρο, γιατί μπορεί να έχουν μια 'ύπουλη' κλινική πορεία, ξεκινώντας από μη ειδικά και αβληχρά συμπτώματα, και προκαλώντας σταδιακά – από ένα σημείο και έπειτα – δύσκολα αναστρέψιμη βλάβη σε ζωτικά όργανα, όπως η καρδιά και το ήπαρ.

Διαγνωστικά εργαλεία

Τα τρία βασικά ερωτήματα που οφείλει να απαντήσει ο κλινικός που διερευνά μία υψηλή τιμή φερριτίνης είναι:

- Η τιμή αυτή συνδέεται με υπερφόρτωση σιδήρου;
- Ποιο είναι το υποκείμενο αίτιο;
- Ποια είναι η βέλτιστη θεραπευτική προσέγγιση που πρέπει να ακολουθηθεί;

Τα πρωταρχικά διαγνωστικά εργαλεία που έχει στη φαρέτρα του είναι το λεπτομερές στοχευμένο ιστορικό και η κλινική εξέταση, που συμπληρώνονται από συγκεκριμένες παρακλινικές εξετάσεις.

Ιστορικό

Από το ιστορικό μπορούν να αντληθούν πληροφορίες αφενός για τα συμπτώματα της υπερφόρτωσης με σίδηρο, αφετέρου για τις καταστάσεις που συνδέονται με υπερφερριταϊμία. Τα συμπτώματα στα αρχικά στάδια της αιμοχρωμάτωσης είναι μη ειδικά, όπως αδυναμία και εύκολη κόπωση. Η προσβολή οργάνων στόχων εκδηλώνεται με κοιλιακό άλγος ή αίσθημα κορεσμού (ηπατομεγαλία), αρθραλγίες, αρρυθμίες, καρδιακή ανεπάρκεια, αμηνόρροια, ανικανότητα ή διαταραχές libido¹³. Από το ατομικό αναμνηστικό αναζητείται η ύπαρξη αρτηριακής υπέρτασης, υπερλιπιδαιμίας, σακχαρώδους διαβήτη, παχυσαρκίας ή άλλων παραμέτρων του μεταβολικού συνδρόμου, αλλά και η κατάχρηση φαρμάκων ή συμπληρωμάτων με ενδεχομένως αυξημένη περιεκτικότητα σε σίδηρο. Το οικογενειακό ιστορικό μπορεί να αποκαλύψει συγγενείς με υπερφερριταϊμία, αυτοάνοσα νοσήματα ή φορείς αιμοσφαιρινοπαθειών. Από τον τρόπο ζωής και τις συνήθειες έχει σημασία η σωματική άσκηση και η κατανάλωση αλκοόλ. Κοινωνική χρήση αλκοόλ θεωρείται η πρόσληψη μέχρι 7 ποτών την εβδομάδα, με μέγιστη κατανάλωση 3 ποτών σε μία περίπτωση, για τις γυναίκες, και 14 ποτών την εβδομάδα για

τους άνδρες με μέγιστη κατανάλωση 4 ποτών σε μία περίπτωση¹⁴.

Κλινική εξέταση

Κατά την κλινική εξέταση αναζητώνται κυρίως αντικειμενικά ευρήματα ηπατοπάθειας ή αιμοσιδήρωσης ή άλλων υποκείμενων νοσημάτων. Ενδεικτικά αναφέρονται: ηπατομεγαλία, σπληνομεγαλία, ασκίτης, κερασοειδή αγγειώματα, γυναιομαστία, υπέρχρωση δέρματος, ατροφία γονάδων, σημεία καρδιακής ανεπάρκειας, διόγκωση ή ευαισθησία αρθρώσεων – η προσβολή της δεύτερης και τρίτης μετακαρποφαλαγγικής είναι χαρακτηριστική στην αιμοχρωμάτωση^{13,15}.

Εργαστηριακές εξετάσεις

Φερριτίνη

Η μέτρηση της φερριτίνης μπορεί να γίνει με ακρίβεια στον ορό ή στο πλάσμα. Τα επίπεδα αναφοράς είναι 30-300μg/L για τους ενήλικες άνδρες και 15-200μg/L για τις γυναίκες¹⁶, και επιπλέον διαφέρουν ανάλογα με την ηλικία και το εργαστήριο. Οι υπάρχουσες μέθοδοι μέτρησης, δηλαδή η ραδιοανοσολογική μέθοδος (RIA), η μέθοδος ενζυμοσύνδετης ανοσοπροσρόφησης (ELISA), η μέθοδος χημειοφωταύγειας και η ανοσολογική μέθοδος ενζύμου – μικροσωματιδίων, φαίνεται να έχουν καλή συσχέτιση μεταξύ τους και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ισοδύναμες¹⁷.

Οι συνηθέστερες καταστάσεις που προκαλούν υπερφερριτιναιμία, εκτός από την υπερφόρτωση με σίδηρο, είναι οι χρόνιες φλεγμονές, οι ηπατοπάθειες και οι κακοήθειες, οι οποίες αναφέρονται παρακάτω. Τα επίπεδα της φερριτίνης μόνο αδρά και με αρκετές επιφυλάξεις μπορούν να διαχωρίσουν αυτές τις καταστάσεις, και πάντα σε συνδυασμό με άλλους κλινικοεργαστηριακούς δείκτες. Ήπια αύξηση της φερριτίνης (250-700μg/L) παρατηρείται συνήθως στις κακοήθειες, τις χρόνιες φλεγμονές και τις χρόνιες ηπατίτιδες, μέτρια αύξηση (700-1000μg/L) σε αρχικά στάδια υπερφόρτωσης με σίδηρο και σε δυσερυθροποιητικές αναιμίες, ενώ σημαντική αύξηση (1000-5000μg/L) θεωρείται παραδοσιακά σχετιζόμενη με την υπερφόρτωση σιδήρου, αλλά μπορεί να υπάρχει και στη νόσο του Still και το αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο¹⁸, ενώ η εκσεσημασμένη αύξηση (>4000-5000μg/L) συνήθως υποδηλώνει συνυπάρχουσα κυτταρική καταστροφή ή οξεία λοίμωξη σε ανοσοκατεσταλμένο ασθενή¹⁹. Η ταυτόχρονα μετρούμενη χαμηλή τιμή της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) ή και άλλων δεικτών

φλεγμονής μπορεί να βοηθήσει στον αποκλεισμό φλεγμονωδών καταστάσεων¹⁹.

Κορεσμός τρανσφερρίνης

Ο αυξημένος κορεσμός της τρανσφερρίνης (TS) αντιπροσωπεύει τη βασική μεταβολική διαταραχή της αιμοχρωμάτωσης και είναι η πιο ευαίσθητη εξέταση για την φαινοτυπική διερεύνηση της νόσου. Αυτό συμβαίνει επειδή απαιτείται μικρότερος βαθμός υπερφόρτωσης σιδήρου για να αυξηθεί ο κορεσμός της τρανσφερρίνης από ό,τι απαιτείται για να αυξηθεί η φερριτίνη²⁰. Ο κορεσμός τρανσφερρίνης δεν μετράται άμεσα στον ορό, αλλά υπολογίζεται από το πηλίκο $\frac{Fe \cdot 100}{TIBC}$, όπου Fe είναι ο σίδηρος ορού και TIBC

(total iron-binding capacity) η ολική σιδηροδεσμευτική ικανότητα του ορού, που σε πολλά εργαστήρια δεν μετράται απευθείας, αλλά υπολογίζεται από το άθροισμα του Fe ορού και της UIBC (μη κορεσμένη σιδηροδεσμευτική ικανότητα του ορού, unsaturated iron-binding capacity), που μετρώνται με τη χρωματομετρική μέθοδο²¹. Φυσιολογικές τιμές θεωρούνται μεταξύ 15-45% (για τους άνδρες το ανώτερο όριο είναι 50%), ενώ τιμές >70-75% σχετίζονται με μεγάλη πιθανότητα ιστικής βλάβης²¹⁻²².

Υπάρχει σημαντική διακύμανση σε επαναληπτικές μετρήσεις στο ίδιο άτομο, που αποδίδεται σε βιολογική μεταβλητότητα τόσο της μέτρησης UIBC όσο και της μέτρησης Fe²². Σε μεγάλες μελέτες έχουν χρησιμοποιηθεί δύο μετρήσεις του κορεσμού τρανσφερρίνης, η πρώτη σε τυχαίο δείγμα και η δεύτερη σε δείγμα μετά από νηστεία >8 ωρών, με συντελεστή συσχέτισης μεταξύ 0,47 και 0,62, ενώ δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την ικανότητα των μετρήσεων να ανιχνεύσουν ασθενείς με κλασική κληρονομική αιμοχρωμάτωση (ομοζυγωτία HFE-C282Y)²¹. Ωστόσο, η ειδικότητα και του κορεσμού τρανσφερρίνης είναι περίπου 75%, με χαμηλή θετική προγνωστική αξία στο γενικό πληθυσμό: μόνο στο 2,3% των ατόμων με αυξημένο κορεσμό τρανσφερρίνης, ανευρίσκεται ομοζυγωτία HFE-C282Y²¹. Η ευαισθησία του αυξημένου κορεσμού τρανσφερρίνης είναι περίπου 95%, ενώ έχουν περιγραφεί και περιπτώσεις ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων σε πρόσφατη αιμοδοσία, έμμηνο ρύση ή οξεία λοίμωξη²²⁻²³.

Μέθοδοι εκτίμησης του φορτίου σιδήρου

Αναδεικνύεται λοιπόν η ανάγκη επιπλέον μεθόδων, ώστε να εκτιμάται το συνολικό φορτίο σιδήρου του οργανισμού.

Βιοψία

Η βιοψία ήπατος μπορεί να γίνει διαδερμικά με βελόνα Trucut 14G, με σχετική ασφάλεια. Παραδοσιακά θεωρείται η μέθοδος αναφοράς για τη μέτρηση της ηπατικής σιδήρωσης (LIC-liver iron concentration) σε mg Fe/g ξηρού βάρους, με ποσοτική ή ημιποσοτική μέθοδο, ενώ επιπλέον εκτιμά και τυχόν συνυπάρχουσα παθολογία ή εγκατεστημένη ηπατική βλάβη¹⁶, ή ακόμα την εντόπιση της περίσσειας του σιδήρου, στα παρεγχυματικά κύτταρα ή τα μακροφάγα¹. Δεν παύει όμως να αποτελεί μειονέκτημα ότι πρόκειται για επεμβατική μέθοδο, με πιθανότητα επιπλοκών, όπως ο πόνος (0,51%) και η αιμορραγία (0,35%)²⁴, ενώ εκφράζονται ανησυχίες για την πιθανότητα σφάλματος δειγματοληψίας, εφόσον ο βιοπτικός κύλινδρος αντιπροσωπεύει το 1/50.000 του συνολικού ηπατικού ιστού²⁵ και έχουν παρατηρηθεί διαφορές μεταξύ διαφορετικών τμημάτων του ήπατος¹⁶. Φυσιολογική τιμή είναι <1,2mg/g, ενώ από μελέτες επιβίωσης ασθενών με θαλασσαιμία έχει προταθεί η διάκριση της αιμοσιδήρωσης σε ήπια (3-7mg/g), μέτρια (7-15mg/g) και βαριά (>15mg/g)²⁶. Η ηπατική σιδήρωση δεν είναι πάντα ανάλογη της καρδιακής σιδήρωσης και έχει προταθεί και η μυοκαρδιακή βιοψία, αλλά λόγω αυξημένης επικινδυνότητας και απαιτήσεων τεχνικής δεξιοτήτας, γίνεται μόνο ερευνητικά ή αν υπάρχουν και άλλοι λόγοι¹⁸.

Απεικονιστικές μέθοδοι

Από τις μη επεμβατικές μεθόδους εκτίμησης της υπερφόρτωσης με σίδηρο, η πλέον διαδεδομένη είναι η μαγνητική τομογραφία (απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού - MRI). Ο ηπατικός και ταυτόχρονα ο μυοκαρδιακός σίδηρος μπορεί να ποσοτικοποιηθεί με ειδικά σχεδιασμένα πρωτόκολλα εξετάσεων, που εκμεταλλεύονται τις μαγνητικές ιδιότητες του σιδήρου να τροποποιούν τους χρόνους T1, T2, T2*, ενώ απαιτείται εξειδικευμένη διαγνωστική ομάδα και ειδικά βαθμονομημένος τομογράφος^{22, 27-28}. Το εύρος του μετρούμενου σιδήρου είναι μεταξύ 0,3-42,7mg/g, που καλύπτει τις κλινικές περιπτώσεις αιμοσιδήρωσης¹⁸.

Τα πρωτόκολλα ποσοτικοποίησης του σιδήρου βασίζονται είτε στη μέτρηση του χρόνου χαλάρωσης (T2 ή T2*), όπως των Anderson – Pennell²⁹, είτε στο λόγο της έντασης σήματος (SIR – signal intensity ratio) ανάμεσα στους παρασπονδυλικούς μύες και το ήπαρ, όπως στο πρωτόκολλο των Gandon et al²⁷. Από συγκριτικές μελέτες των διάφορων μεθόδων³⁰⁻³¹ διαπιστώνεται ότι η μέτρηση του χρόνου χαλάρωσης

είναι η καλύτερη μέθοδος, ακριβής και αναπαραγωγίμη σε όλα τα επίπεδα υπερφόρτωσης με σίδηρο, ενώ οι μέθοδοι SIR είναι λιγότερο ακριβείς σε βαριά αιμοσιδήρωση ήπατος³⁰. Τα πρωτόκολλα συνεχώς βελτιώνονται και πλέον είναι διαθέσιμα και κάποια που αξιοποιούν την παράμετρο R2*, που δεν απαιτούν σκιαγραφικό μέσο ή κράτημα της αναπνοής, ώστε να είναι κατάλληλα και για παιδιά³².

Η πλέον αξιόπιστη μη επεμβατική μέθοδος, λέγεται SQUID (superconducting quantum-interference device), βασίζεται σε μετρήσεις μαγνητικής επιδεκτικότητας (susceptometry) και είναι διαθέσιμη σε ελάχιστα ερευνητικά κέντρα παγκοσμίως, αν και γίνονται προσπάθειες να απλοποιηθεί ως μέθοδος³³⁻³⁴. Δεν χρησιμοποιείται στην κλινική πρακτική.

Θεραπευτικό κριτήριο – δοκιμή αφαιμάξεων

Πριν ανακαλυφθούν οι μη επεμβατικές μέθοδοι, χρησιμοποιούνταν κυρίως η δοκιμή αφαιμάξεων, για να διαπιστωθεί αν το άτομο με υπερφερριταιμία είχε υπερφόρτωση με σίδηρο. Μια αφαιμάξη 500ml απομακρύνει 0,25gr κινητοποιούμενου σιδήρου. Άτομα που ανέχονται π.χ. μέχρι και 20 συχνές αφαιμάξεις (αφαίρεση 5gr σιδήρου), θεωρείται ότι έχουν υπερφόρτωση με σίδηρο, ενώ στις άλλες περιπτώσεις υπερφερριταιμίας, μετά από λίγες αφαιμάξεις αναπτύσσεται σιδηροπενική αναιμία²². Η συγκεκριμένη προσέγγιση, παρά τις πιθανές παρενέργειες (φλεβίτιδα, βαγοτονικά επεισόδια), έχει θετική αποδοχή από τους ασθενείς, γιατί αισθάνονται ότι υποβάλλονται ταυτόχρονα και σε μια θεραπευτική παρέμβαση για την διαπιστωθείσα υπερφερριταιμία τους²².

Γενετικός έλεγχος

Η κληρονομική αιμοχρωμάτωση προκαλείται από μεταλλάξεις σε γονίδια, τα προϊόντα των οποίων συμμετέχουν στη ρύθμιση της ομοιοστασίας του σιδήρου³⁵. Οι κυριότερες μεταλλάξεις που έχουν αναγνωρισθεί έως σήμερα και ευθύνονται για την εκδήλωση υπερφερριταιμίας συνοψίζονται στον πίνακα 1.

Ιστορικά, το πρώτο γονίδιο που αναγνωρίστηκε ότι συνδέεται με καταστάσεις υπερφόρτωσης σιδήρου αφορά στην πρωτεΐνη HFE και συγκεκριμένα τις δύο βασικές του μεταλλάξεις (C282Y και H63D). Επειδή παρουσιάζει την υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης (συχνότητα αλληλίου C282Y περίπου 5%) στον πληθυσμό βορειοευρωπαϊκής καταγωγής (Κέλτες) και η ανίχνευση των συγκεκριμένων μεταλλάξεων είναι απλή και καλά τυποποιημένη, αποτελεί ένα από τα πρώτα

γονίδια που ελέγχονται σε καταστάσεις διερεύνησης υπερφερριτιναιμίας³⁵. Σύμφωνα με τις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικανικής Εταιρίας Μελέτης Νοσημάτων του Ήπατος¹³, προτείνεται να πραγματοποιείται γενετικός έλεγχος για HFE-C282Y και H63D, σε ασθενείς που παρουσιάζουν κορεσμό τρανσφερρίνης (σε δείγμα νηστείας) >45% και τιμές φερριτίνης ορού >200ng/ml για τους άνδρες και >150ng/ml για τις γυναίκες²⁰, όρια αρκετά χαμηλά για τα δεδομένα του ελληνικού πληθυσμού όπου η συχνότητα των σχετικών μεταλλάξεων εμφανίζεται χαμηλή.

Συνεκτιμώντας πάντα την κλινική εικόνα, όταν η μετάλλαξη C282Y βρεθεί σε ομοζυγωτία ή βρεθούν σε διπλή ετεροζυγωτία και οι δύο μεταλλάξεις, σε συνδυασμό με τεκμηριωμένα στοιχεία παρουσίας υπερφόρτωσης με σίδηρο, τίθεται εύκολα η διάγνωση της κληρονομικής αιμοχρωμάτωσης³.

Στην περίπτωση που η νόσος εμφανιστεί σε νεαρή ηλικία, έχει νόημα η διενέργεια γονιδιακού ελέγχου και για τα γονίδια της hemojuvelin (HJV) και της επιδίνης (HAMP), μεταλλάξεις οι οποίες οδηγούν στην εκδήλωση νεανικής αιμοχρωμάτωσης τύπου 2α και 2β αντίστοιχα³⁶⁻³⁷.

Έλεγχος για τις υπόλοιπες πιο σπάνιες σε εμφάνιση μεταλλάξεις είναι λογικό να ζητηθεί σε μεταγενέστερο στάδιο, στους ελάχιστους εκείνους ασθενείς που διαθέτουν τεκμηριωμένη υπερφόρτωση με σίδηρο, βρέθηκαν αρνητικοί στον έλεγχο για τις μεταλλάξεις C282Y και H63D του γονιδίου HFE και ταυτόχρονα έχουν αποκλειστεί άλλες συχνότερες αιτίες υπερ-

φόρτωσης σιδήρου¹⁹. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι μεταλλάξεις του γονιδίου της φερροπορτίνης και του TFR2. Για τα γονίδια αυτά, έχουν βρεθεί αρκετοί πολυμορφισμοί (49 για TFR2 και 60 για SLC40A1) αγνώστου κλινικής σημασίας, οι περισσότεροι από τους οποίους εμφανίζονται σε μεμονωμένες οικογένειες³⁸⁻³⁹. Συνεπώς, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρειάζεται προσοχή και συνήθως, το εάν ένας πολυμορφισμός χαρακτηρίζεται παθολογικός ή όχι βασίζεται κυρίως στην κλινική εικόνα του ασθενούς³⁵.

Οικογενειακός έλεγχος

Η ανάγκη διενέργειας ελέγχου και στα υπόλοιπα μέλη της οικογένειας καθορίζεται μεταξύ των άλλων και από τη συχνότητα των μεταλλάξεων στον πληθυσμό. Γενικά η συχνότητα εμφάνισης μεταλλάξεων των γονιδίων που σχετίζονται με κληρονομική αιμοχρωμάτωση είναι χαμηλή, παρουσιάζει όμως διακυμάνσεις σε διαφορετικούς πληθυσμούς. Η μετάλλαξη C282Y του γονιδίου HFE που έχει μελετηθεί περισσότερο, ανευρίσκεται σε υψηλότερο ποσοστό (0,05%) σε πληθυσμούς βορειοευρωπαϊκής καταγωγής (1 ανά 373 άτομα). Η χαμηλότερη επίπτωση αναφέρεται στην ανατολική Ασία (0,00004% ή 1 ανά 286.530 άτομα)³. Στην Ελλάδα, το ποσοστό C282Y ομοζυγών υπολογίστηκε στο 0,0009% γεγονός που μεταφράζεται σε 1 ανά 111.111 άτομα⁴⁰.

Για τα υπόλοιπα γονίδια (HJV, HAMP, TFR2 και SLC40A1) υπάρχουν λιγότερα δεδομένα. Σε πρόσφατη μεγάλη ανασκόπηση που πραγματοποιήθηκε αναλύο-

Πίνακας 1. Γενετικά αίτια κληρονομικής αιμοχρωμάτωσης (τροποποιημένο από¹).

Γενετικές Διαταραχές	Γονίδιο	Κορεσμός τρανσφερρίνης	Υπερφόρτωση Fe	Συχνότητα ετεροζυγών
Στον άξονα επιδίνης-φερροπορτίνης				
Κληρονομική αιμοχρωμάτωση (τύπου 1)	HFE (C282Y, H63D) (AR)	Υψηλός	Ήπατοκύτταρα	0,0627
Νεανική αιμοχρωμάτωση (τύπου 2a)	HJV (G320V) (AR)	Υψηλός	Ήπατοκύτταρα	0,000632
Νεανική αιμοχρωμάτωση (τύπου 2b)	HAMP (93delG) (AR)	Υψηλός	Ήπατοκύτταρα	0,0000329
Κληρονομική αιμοχρωμάτωση (τύπου 3)	TFR2 (AR)	Υψηλός	Ήπατοκύτταρα	0,000203
Νόσος φερροπορτίνης τύπου 4a	SLC40A1 (AD)	Χαμηλός/ φυσιολογικός		0,000679
Νόσος φερροπορτίνης τύπου 4b	SLC40A1 (AD)	Υψηλός	Ήπατοκύτταρα	
Στα γονίδια της φερριτίνης				
Σύνδρομο υπερφερριτιναιμίας καταρράκτη	L-FT IRE (19q13.1) (AD)	Φυσιολογικός	Όχι	
Καλοήθης υπερφερριτιναιμία	L-FT (pThr30Ile) (AD)	Φυσιολογικός	Όχι	

HFE: High Fe, HJV: Hemojuvelin, HAMP: γονίδιο επιδίνης, TFR2: transferrin receptor-2, SLC40A1: γονίδιο φερροπορτίνης, L-FT: L-Ferritin, IRE: iron-response element, AR: αυτοσωμικό υπολειπόμενο, AD: αυτοσωμικό επικρατές γονίδιο

ντας δεδομένα από 3 μεγάλες μελέτες αλληλούχισης, επιχειρήθηκε να υπολογιστούν οι εκτιμώμενες συχνότητες εμφάνισης των μη-HFE παθολογικών μεταλλάξεων σε παγκόσμιο επίπεδο³⁵. Για το γονίδιο HJV, ο παθολογικός γονότυπος εκτιμάται ότι εμφανίζεται σε 1 ανά 4.791.406 άτομα, με το μεγαλύτερο αριθμό να εντοπίζεται στη νότια Ασία (1 ανά 1.611.664 άτομα). Για το γονίδιο του TFR2 η επίπτωση υπολογίζεται σε 1 ανά 6.164.757 άτομα με το μεγαλύτερο ποσοστό να εμφανίζεται στη βόρεια Ευρώπη, ενώ για το HAMP υπολογίζεται σε 1 ανά 181.700.486 άτομα. Τέλος, για το γονίδιο της φερροπορτίνης (SLC40A1) που λόγω του επικρατούντος χαρακτήρα της μετάλλαξης, αρκεί να βρεθεί σε ετεροζυγωτία, η εκτιμώμενη συχνότητα εμφάνισης είναι 1 ανά 1.373 άτομα, με πολύ μεγάλη αναλογία σε πληθυσμό αφρικανικής καταγωγής (1 ανά 197 άτομα)³⁵.

Η συχνότητα εμφάνισης μεταλλάξεων στο γονίδιο HFE στην Ευρώπη, μειώνεται σταδιακά καθώς κινούμαστε από τον βορρά προς το νότο. Λόγω της σπανιότητας εμφάνισης των μεταλλάξεων, της χαμηλής διεισδυτικότητας της νόσου και του υψηλού κόστους, ο έλεγχος του γενικού πληθυσμού χωρίς οικογενειακό ιστορικό, δεν συνιστάται.

Ακόμα και σε οικογένειες στις οποίες ένα μέλος έχει διαγνωστεί με κληρονομική αιμοχρωμάτωση, υπάρχει σκεπτικισμός ως προς τον έλεγχο των υπόλοιπων μελών, καθώς η διεισδυτικότητα της νόσου είναι μικρή. Άγνωστοι – μέχρι στιγμής – περιβαλλοντικοί και γενετικοί συμπαραγόντες επηρεάζουν την εκδήλωση κλινικών συμπτωμάτων υπερφόρτωσης με σίδηρο σε άτομα που φέρουν τις συγκεκριμένες μεταλλάξεις³⁵. Μελέτη του 2008, κατέδειξε ότι άτομα που σε τυχαίο έλεγχο βρέθηκαν ομοζυγώτες για τη μετάλλαξη HFE-C282Y, ακόμη και μετά από δώδεκα έτη παρακολούθησης, στην πλειοψηφία τους παρέμειναν ασυμπτωματικά. Μόνο το 28% των ανδρών και μόλις το 1,2% των γυναικών ικανοποιούσαν τα κριτήρια ασθένειας με επιβεβαιωμένη υπερφόρτωση σιδήρου⁴¹.

Παρόλα αυτά, οι τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικανικής Εταιρίας Μελέτης Νοσημάτων του Ήπατος¹³ προτείνουν σε οικογένειες όπου ένα τουλάχιστον μέλος πάσχει από επιβεβαιωμένη κληρονομική αιμοχρωμάτωση (HFE), όλοι οι συγγενείς πρώτου βαθμού να υποβάλλονται σε έλεγχο που περιλαμβάνει: κορεσμό τρανσφερρίνης σε δείγμα νηστείας, φερριτίνη ορού και γονιδιακό έλεγχο για τις μεταλλάξεις C282Y και H63D. Η κατάλληλη ηλικία διενέργειας του ανωτέρω ελέγχου είναι από 18 έως 30 έτη, όπου οι μετρούμενοι δείκτες παρουσιάζονται επηρεασμένοι, χωρίς να έχει προλάβει να εγκατασταθεί

σοβαρή υπερφόρτωση σιδήρου, ικανή να οδηγήσει σε ανεπανόρθωτη βλάβη σημαντικών οργάνων, όπως η καρδιά και το ήπαρ²⁰.

Για τις πλην HFE αιμοχρωματώσεις ο έλεγχος της οικογένειας ανάλογα με την περίπτωση μπορεί να είναι πιο επιτακτικός.

Συμπληρωματικές εξετάσεις

Η πλήρης διερεύνηση οποιουδήποτε ασθενή με υπερφερριταιμία, είτε υπάρχει είτε όχι υπερφόρτωση με σίδηρο, συνήθως περιλαμβάνει και δείκτες για τις συχνότερες αιτίες υπερφερριταιμίας. Πλήρης ηπατικός βιοχημικός έλεγχος με AST, ALT, γGT, ALP, χολερυθρίνη, λευκώματα, αλβουμίνη, χρόνος προθρομβίνης, χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης, ινωδογόνο, HBsAg, antiHCV, αλλά και απεικονιστικός έλεγχος με υπερηχογράφημα άνω κοιλίας, μέτρηση των παραμέτρων του μεταβολικού συνδρόμου (αρτηριακή πίεση, σάκχαρο, περίμετρος μέσης, δείκτης μάζας σώματος, χοληστερόλη, τριγλυκερίδια) μπορεί να αποκαλύψουν συνυπάρχοντες μηχανισμούς υπερφερριταιμίας ακόμα και στους ασθενείς με γνωστή υπερφόρτωση με σίδηρο. Ειδικότερα, ακριβώς επειδή ο επιπολασμός του μεταβολικού συνδρόμου στον ελληνικό πληθυσμό είναι υψηλός, υπολογιζόμενος μεταξύ 19,8%⁴² και 23,6%⁴³, η **συσχέτιση της** υπερφερριταιμίας με την κλινική αυτή οντότητα παρουσιάζεται αρκετά συχνά.

Επειδή η υπερφερριταιμία μπορεί να συνυπάρχει με πολλά άλλα σημαντικά κλινικοεργαστηριακά ευρήματα, η ερμηνεία της απαιτεί ευρύτερη διαφοροδιαγνωστική σκέψη με βάση το υποκείμενο νόσημα (πίνακας 2). Ενδεικτικά, η διερεύνηση μιας συνυπάρχουσας αναιμίας περιλαμβάνει και αιμολυτικούς δείκτες για ανίχνευση μη αποτελεσματικής ερυθροποίησης. Συνυπάρχουσες κυτταροπενίες ή σπληνομεγαλία μπορεί να οφείλονται σε σπάνια αιματολογικά νοσήματα, όπως η νόσος Gaucher και τα αιμοφαγοκυτταρικά σύνδρομα. Η συνεισφορά του αιματολόγου με τη διενέργεια μυελογράμματος μπορεί να είναι καθοριστική. Ακόμα και η φλεγμονή λόγω ιστικής καταστροφής, όπως σε σπληνικό ή μυοκαρδιακό έμφρακτο, μπορεί να προκαλέσει αύξηση της φερριτίνης²².

Διαγνωστικός αλγόριθμος

Στη βιβλιογραφία υπάρχει πληθώρα διαγνωστικών πλάνων που μπορούν να εφαρμοστούν σε περιπτώσεις διερεύνησης υπερφερριταιμίας^{13,20,45-47}. Οι βασικοί άξονες που προτείνονται ακολουθούν περίπου

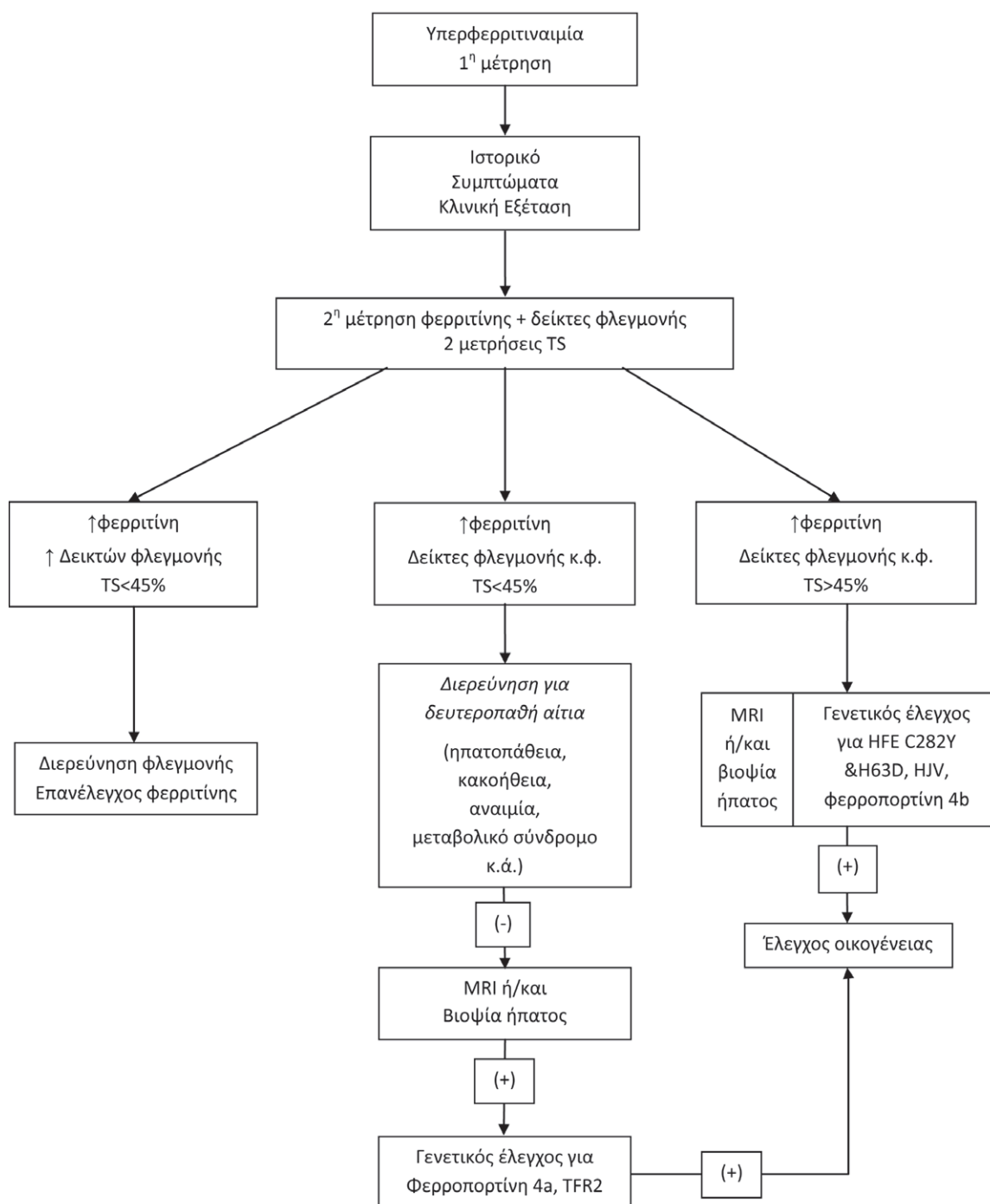
Πίνακας 2. Αίτια υπερφερριτιναιμίας εκτός κληρονομικής αιμοχρωμάτωσης

Αίτιο	Γονίδιο	Κορεσμός τρανσφερρίνης*
Διαταραχή στη μεταφορά σιδήρου		
Ανεπαρκής απελευθέρωση στα ερυθρά		
Ασερουλοπλάσμαιναιμία	CP (AR)	Χαμηλός
Ανεπαρκής πρόσληψη από τα ερυθρά		
Μεταλλάξεις του DMT-1	DMT-1 (AR)	Υψηλός
Υποτρανσφερριναιμία	TF (AR)	Υψηλός
Μη αποτελεσματική ερυθροποίηση		
Μεσογειακή αναιμία	Σφαιρίνη (AR)	Υψηλός
Συγγενής σιδηροβλαστική αναιμία	ALAS2 (XL), SLC25A38 (AR), GLRX5 (AR), ABCB7 (XL)	Υψηλός
Συγγενής δυσερυθροποιητική αναιμία		
Τύπου I	DAN1 (AR)	Υψηλός
Τύπου II	SEC23B (AR)	Υψηλός
Τύπου III	Άγνωστη (AD)	Υψηλός
Απλαστική αναιμία		
Όψιμη δερματική πορφυρία		
Ηπατικά Νοσήματα		
Αλκοολική ηπατίτιδα		Φυσιολογικός / χαμηλός
Λοιμώδεις ηπατίτιδες (A, B, C, D, E)		Φυσιολογικός / χαμηλός
Νεογνική υπερφόρτωση με σίδηρο		Υψηλός ⁴⁴
Άλλα νοσήματα		
Μεταβολικό Σύνδρομο		Φυσιολογικός / χαμηλός
Διαβήτης – Αντίσταση στην ινσουλίνη		Φυσιολογικός
Καρκίνος (πνεύμονα, μαστού, ωοθηκών, νεφρού, λέμφωμα, λιπώσρκωμα)		
Φλεγμονή οξεία ή χρόνια		Φυσιολογικός / χαμηλός
Αυτοάνοσα νοσήματα (Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος, Ρευματοειδής αρθρίτιδα)		
Αιμοφαγοκυτταρικά σύνδρομα		
Χρόνιες αιμολυτικές αναιμίες		
Χρόνια νεφρική νόσος		
Νόσος Gaucher		
Ιατρογενή Αίτια		
Μεταγγίσεις		Υψηλός
Δηλητηρίαση με σίδηρο		Υψηλός

* όπου υπάρχουν σαφή βιβλιογραφικά δεδομένα

την ίδια κεντρική φιλοσοφία με μικρές παραλλαγές, ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του πληθυσμού ο οποίος μελετήθηκε. Βάσει της εμπειρίας μας σε συν-

δυασμό με τη μελέτη της βιβλιογραφίας, ο αλγόριθμος που προτείνουμε με βάση τα δεδομένα της ελληνικής πραγματικότητας απεικονίζεται στο σχήμα 1.



Σχήμα 1. Διαγνωστικός αλγόριθμος διερεύνησης υπερφερριτιναιμίας.

Θεραπευτικές επιλογές: Αφαιμάξεις-αποσιδήρωση

Η διερεύνηση μίας υψηλής τιμής φερριτίνης, συχνά μπορεί να απαντήσει στο ερώτημα για την ύπαρξη ή

μη υπερφόρτωσης με σίδηρο. Δυστυχώς στην πράξη, πολλές φορές δεν απαντά στο ερώτημα του υποκείμενου αιτίου. Ακόμη και σε αυτές τις περιπτώσεις όμως τίθενται κάποια θεραπευτικά διλήμματα.

Αντιμετώπιση υπερφόρτωσης με σίδηρο

Η αντιμετώπιση της υπερφερριτιναιμίας σε ασθενείς με περίσσεια σιδήρου ή/και ιστική προσβολή, χωρίς αναιμία, περιλαμβάνει ένα πρόγραμμα τακτικών αφαιμάξεων. Στην κληρονομική αιμοχρωμάτωση, όπου η επιβάρυνση είναι μεγάλη, αρχικά γίνονται αφαιμάξεις ανά 1-2 εβδομάδες, με στόχο τη μείωση του φορτίου σιδήρου και της φερριτίνης μεταξύ 50-100μg/L, ενώ ακολουθεί η φάση συντήρησης με αφαιμάξεις ανά 3-6μήνες⁴⁵. Σε περιπτώσεις ήπιας επιβάρυνσης, οι αφαιμάξεις μπορεί να γίνονται αραιότερα, για να αποφευχθεί η ανάπτυξη αναιμίας, ή απλά οι ασθενείς να ενθαρρύνονται να γίνουν τακτικοί αιμοδότες, εφόσον πληρούν τα κριτήρια αιμοδοσίας. Όταν δεν υπάρχει υπερφόρτωση με σίδηρο, είναι σημαντικό να μη γίνονται 'θεραπευτικές' αφαιμάξεις, γιατί ενισχύεται ο μύθος ότι υπάρχει μια γενετική πάθηση στην οικογένεια, ενώ επί της ουσίας εστιάζουμε στη βελτίωση μιας βιοχημικής παραμέτρου χωρίς σαφήνεια στόχου¹².

Σε ασθενείς με αναιμία και δευτεροπαθή υπερφόρτωση με σίδηρο ή εκεί όπου δεν μπορούν να εφαρμοστούν αφαιμάξεις, η θεραπεία αποσιδήρωσης με χηλικούς παράγοντες είναι απαραίτητη, προκειμένου να προληφθεί η βλάβη των ζωτικών οργάνων.

Αντιμετώπιση υποκείμενης παθολογίας

Ενώ θα περίμενε κανείς, ότι σε περιπτώσεις υποκείμενης ηπατοπάθειας, η αντιμετώπιση κατευθύνεται μόνο έναντι του αρχικού αιτίου, η σύγχρονη θεώρηση περιπλέκει τη σχέση του σιδήρου με τις συχνότερες ηπατοπάθειες⁴⁸. Στην αλκοολική ηπατική νόσο, τη μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (η ηπατική εκδήλωση του μεταβολικού συνδρόμου), τον ηπατοκυτταρικό καρκίνο, αλλά και τις ιογενείς ηπατίτιδες, υπάρχουν αναφορές ότι η συνυπάρχουσα περίσσεια σιδήρου μπορεί να αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ταχύτερη εξέλιξη της νόσου, ενώ και η ίδια η φερριτίνη ως μόριο μπορεί να επάγει την ηπατική ίνωση⁴⁹.

Από τη μια πλευρά, η αντιμετώπιση του υποκείμενου αιτίου μπορεί να μειώσει τη φερριτίνη, για παράδειγμα ο περιορισμός της κατανάλωσης αλκοόλ, τα διαιτητικά ή φαρμακευτικά μέτρα μείωσης του σακχάρου και της χοληστερόλης. Από την άλλη, υπάρχουν μελέτες όπου διαπιστώνεται ότι η απομάκρυνση του σιδήρου σε ασθενείς με μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα, ακόμα και χωρίς σημαντική υπερφερριτιναιμία, βελτιώνει την αντίσταση στην ινσουλίνη και τα επίπεδα των τρανσαμινασών⁵⁰⁻⁵².

Δοκιμή της κλινικής παρατήρησης

Σε πολλά ασυμπτωματικά άτομα με υπερφερριτιναιμία, δεν απαιτείται αρχικά επιθετική θεραπευτική προσέγγιση. Η κλινική πορεία ασυμπτωματικών ατόμων με ήπια υπερφερριτιναιμία χωρίς άλλα παθολογικά ευρήματα στον αρχικό εργαστηριακό έλεγχο, παρέχει αρχικά τη δυνατότητα παρακολούθησης, με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις φερριτίνης, κορεσμού τρανσφερρίνης και ενδεχομένως διαιτητικές παρεμβάσεις αν υπάρχουν ενδείξεις μεταβολικού συνδρόμου.

Στα πλαίσια αυτής της παρακολούθησης, οι επαναληπτικές μετρήσεις μπορεί να παρουσιάσουν διακυμάνσεις ή ακόμα και μείωση, οπότε πρόκειται μάλλον για εκδηλώσεις μεταβολικού συνδρόμου. Στην περίπτωση όμως που υπάρχει σταθερότητα ή αύξηση, η ανάγκη για διερεύνηση και περαιτέρω θεραπευτική αντιμετώπιση, καθίσταται πιο επιτακτική²².

Συμπεράσματα

Το εργαστηριακό εύρημα της υπερφερριτιναιμίας συνδέεται με μια πλειάδα κλινικών καταστάσεων, κάποιες από τις οποίες είναι πολύ συχνές και δεν απαιτείται παρά αναγνώρισή τους και καθησυχασμός του ασθενή, ενώ κάποιες άλλες μπορεί να έχουν σταδιακή κλινική επιδείνωση, με υπερφόρτωση σιδήρου και βλάβη ζωτικών οργάνων. Το πρώτιστο μέλημα του κλινικού ιατρού είναι ο διαχωρισμός των δύο αυτών περιπτώσεων, και στη συνέχεια η ακριβής διάγνωση του υποκείμενου αιτίου της υπερφερριτιναιμίας. Είναι σημαντικό να μην παραβλέπεται το γεγονός ότι και μετά από ενδελεχή έλεγχο, δεν ανιχνεύεται πάντα η αιτία της υπερφερριτιναιμίας. Και στις περιπτώσεις όμως αυτές μπορεί να ληφθούν κλινικές αποφάσεις για την παρακολούθηση ή τη θεραπευτική παρέμβαση στον ασθενή ή την αναγκαιότητα οικογενειακού ελέγχου. Βασικός άξονας της διαγνωστικής σκέψης είναι η εμπειριστατωμένη διενέργεια εξειδικευμένου ελέγχου, ώστε από τη μια να αποφεύγονται οι άσκοπες εξετάσεις με το επακόλουθο κόστος και την ψυχολογική επιβάρυνση, και από την άλλη να μην διαλάθουν οι ασθενείς με αρχόμενη υπερφόρτωση με σίδηρο, που θα έχουν τη μέγιστη δυνατή ωφέλεια από την πρώιμη παρέμβαση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Camaschella C, Poggiali E. Towards explaining "unexplained hyperferritinemia". *Haematologica* 2009;94:307-9.
2. Crook M. Hyperferritinaemia; laboratory implications. *Ann Clin Biochem* 2012;49:211.

3. Schrier SL, Bacon BR. Genetics of hereditary hemochromatosis. UpToDate. (Accessed on 17/6/2016), <https://www.uptodate.com/contents/genetics-of-hereditary-hemochromatosis>.
4. Elster AD. Ferritin vs Hemosiderin. Questions and Answers in MRI. (Accessed on: 3/7/2016), <http://mri-q.com/ferritinhemosiderin.html>.
5. Lawson DM, Artymiuk PJ, Yewdall SJ, Smith JM, Livingstone JC, Treffry A, et al. Solving the structure of human H ferritin by genetically engineering intermolecular crystal contacts. *Nature* 1991;349:541-544.
6. Fleming RE, Ponka P. Iron overload in human disease. *N Engl J Med* 2012;366:348-359.
7. Gozzelino R, Arosio P. Iron homeostasis in health and disease. *Int J Mol Sci* 2016;17:130.
8. Davis RJ, Corvera S, Czech M. Insulin stimulates cellular iron uptake and causes the redistribution of intracellular transferrin receptors to the plasma membrane. *J Biol Chem* 1986;261:8708-8711.
9. Schrier SL, Bacon BR. Iron overload syndromes other than hereditary hemochromatosis. UpToDate (Accessed on 17/6/2016), <https://www.uptodate.com/contents/iron-overload-syndromes-other-than-hereditary-hemochromatosis>.
10. Camaschella C, Schrier SL. Regulation of iron balance. UpToDate (Accessed on 17/6/2016), <https://www.uptodate.com/contents/regulation-of-iron-balance>.
11. Adams PC, Reboussin DM, Barton JC, McLaren CE, Eckfeldt JH, McLaren GD, et al. Hemochromatosis and iron-overload screening in a racially diverse population. *N Engl J Med* 2005;352:1769-1778.
12. Goot K, Hazeldine S, Bentley P, Olynyk J, Crawford D. Elevated serum ferritin-what should GPs know? *Aust Fam Physician* 2012;41:945.
13. Bacon BR, Adams PC, Kowdley KV, Powell LW, Tavill AS. Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2011;54:328-343.
14. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA). Drinking Levels Defined. (Accessed on 17/6/2016), <https://www.niaaa.nih.gov/alcohol-health/overview-alcohol-consumption/moderate-binge-drinking>.
15. Schrier SL, Bacon BR. Clinical manifestations and diagnosis of hereditary hemochromatosis. UpToDate (Accessed on 17/6/2016), <https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-hereditary-hemochromatosis>.
16. Beaton MD, Adams PC. Treatment of hyperferritinemia. *Ann Hepatol* 2012;11:294-300.
17. Stacy DL, Han P. Serum ferritin measurement and the degree of agreement using four techniques. *Am J Clin Pathol* 1992;98:511-515.
18. Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol* 2008;88:7-15.
19. Schrier SL, Bacon BR. Approach to the patient with suspected iron overload. UpToDate (Accessed on 17/6/2016), <https://www.uptodate.com/contents/approach-to-the-patient-with-suspected-iron-overload>.
20. Schrier SL, Bacon BR. Screening for hereditary hemochromatosis. UpToDate (Accessed on 17/6/2016), <https://www.uptodate.com/contents/screening-for-hereditary-hemochromatosis>.
21. Adams PC, Reboussin DM, Press RD, Barton JC, Acton RT, Moses GC, et al. Biological variability of transferrin saturation and unsaturated iron-binding capacity. *Am J Med* 2007;120:999. e1-e7.
22. Adams PC, Barton JC. A diagnostic approach to hyperferritinemia with a non-elevated transferrin saturation. *J Hepatol* 2011;55:453-458.
23. Barton JC, Bertoli LF, Janich MR, Arthur MW, Alford TJ. Normal transferrin saturation in hemochromatosis. *Hosp Pract* 1991;26:45-48.
24. Myers RP, Fong A, Shaheen AAM. Utilization rates, complications and costs of percutaneous liver biopsy: a population-based study including 4275 biopsies. *Liver Int* 2008;28:705-712.
25. Campbell M, Reddy K. The evolving role of liver biopsy. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20:249-259.
26. Olivieri NF, Brittenham GM. Iron-chelating therapy and the treatment of thalassemia. *Blood* 1997;89:739-761.
27. Gandon Y, Olivie D, Guyader D, Aube C, Oberti F, Sebillé V, et al. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet* 2004;363:357-362.
28. Anderson LJ, Westwood MA, Holden S, Davis B, Prescott E, Wonke B, et al. Myocardial iron clearance during reversal of siderotic cardiomyopathy with intravenous desferrioxamine: a prospective study using T2* cardiovascular magnetic resonance. *Br J Haematol* 2004;127:348-355.
29. Anderson L, Holden S, Davis B, Prescott E, Charrier C, Bunce N, et al. Cardiovascular T2-star (T2*) magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload. *Eur Heart J* 2001;22:2171-2179.
30. Echeverría JMA, Castiella A, Empanaza JI. Quantification of iron concentration in the liver by MRI. *Insights Imaging* 2012;3:173-180.
31. Christoforidis A, Perifanis V, Spanos G, Vlachaki E, Economou M, Tsatra I, et al. MRI assessment of liver iron content in thalassamic patients with three different protocols: comparisons and correlations. *Eur J Haematol* 2009;82:388-392.
32. St Pierre TG, El-Beshlawy A, Elalfy M, Al Jefri A, Al Zir K, Daar S, et al. Multicenter validation of spin-density projection-assisted R2-MRI for the noninvasive measurement of liver iron concentration. *Magn Reson Med* 2014;71:2215-2223.
33. Brittenham GM, Farrell DE, Harris JW, Feldman ES, Danish EH, Muir WA, et al. Magnetic-susceptibility measurement of human iron stores. *N Engl J Med* 1982;307:1671-1675.
34. Avrin WF, Kumar S. Noninvasive liver iron measurements with a room-temperature susceptometer. *Physiol*

- Meas 2007;28:349-361.
35. Wallace DF, Subramaniam VN. The global prevalence of HFE and non-HFE hemochromatosis estimated from analysis of next-generation sequencing data. *Genet Med* 2015;18:618-626.
 36. Papanikolaou G, Samuels ME, Ludwig EH, MacDonald ML, Franchini PL, Dubé M-P, et al. Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2004;36:77-82.
 37. Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, Alberti F, Girelli D, Christakis J, et al. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2003;33.
 38. Speletas M, Kioumi A, Loules G, Hytioglou P, Tsiouridis J, Christakis J, et al. Analysis of SLC40A1 gene at the mRNA level reveals rapidly the causative mutations in patients with hereditary hemochromatosis type IV. *Blood Cells Mol Dis* 2008;40:353-359.
 39. Speletas M, Onoufriadis E, Kioumi A, Germenis AE. SLC40A1-R178G mutation and ferroportin disease. *J Hepatol* 2011;55:730-731.
 40. Κιουμή Α. Επιπολασμός και μορφές της κληρονομικής αιμοχρωμάτωσης σε ομάδες Ελληνικού πληθυσμού [Διδακτορική διατριβή]. Θεσσαλονίκη: Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 2004.
 41. Allen KJ, Gurrin LC, Constantine CC, Osborne NJ, Delatycki MB, Nicoll AJ, et al. Iron-overload-related disease in HFE hereditary hemochromatosis. *N Engl J Med* 2008;358:221-230.
 42. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Skoumas J, Tousoulis D, Toutouza M, et al. Impact of lifestyle habits on the prevalence of the metabolic syndrome among Greek adults from the ATTICA study. *Am Heart J* 2004;147:106-112.
 43. Athyros V, Bouloukos V, Pehlivanidis A, Papageorgiou A, Dionysopoulou S, Symeonidis A, et al. The prevalence of the metabolic syndrome in Greece: The MetS-Greece Multicentre Study. *Diabetes Obes Metab* 2005;7:397-405.
 44. Silver M, Beverley D, Valberg L, Cutz E, Phillips M, Shaheed W. Perinatal hemochromatosis. Clinical, morphologic, and quantitative iron studies. *Am J Pathol* 1987;128:538.
 45. European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines for HFE hemochromatosis. *J Hepatol* 2010;53:3-22.
 46. Sogni P, Buffet C. Démarche clinique devant une hyperferritinémie. *Presse Med* 2013;42:405-410.
 47. ARUP Consult. Hemochromatosis Testing Algorithm. 2016 (Accessed on 27/6/2016), <https://arupconsult.com/algorithm/hemochromatosis-testing-algorithm>.
 48. Fargion S, Valenti L, Fracanzani AL. Beyond hereditary hemochromatosis: new insights into the relationship between iron overload and chronic liver diseases. *Dig Liver Dis* 2011;43:89-95.
 49. Ruddell RG, Hoang-Le D, Barwood JM, Rutherford PS, Piva TJ, Watters DJ, et al. Ferritin functions as a proinflammatory cytokine via iron-independent protein kinase C zeta/nuclear factor kappaB-regulated signaling in rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 2009;49:887-900.
 50. Facchini FS, Hua NW, Stoohs RA. Effect of iron depletion in carbohydrate-intolerant patients with clinical evidence of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002;122:931-939.
 51. Valenti L, Fracanzani AL, Dongiovanni P, Bugianesi E, Marchesini G, Manzini P, et al. Iron depletion by phlebotomy improves insulin resistance in patients with nonalcoholic fatty liver disease and hyperferritinemia: evidence from a case-control study. *Am J Gastroenterol* 2007;102:1251-1258.
 52. Lombardi R, Pisano G, Fargion S. Role of Serum Uric Acid and Ferritin in the Development and Progression of NAFLD. *Int J Mol Sci* 2016;17:548.

Κλωνικοί κυτταρικοί πληθυσμοί

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΠΑΤΕΡΑΚΗΣ

Αιματολόγος, Διευθυντής Ανοσολογικού Τμήματος και Εθνικού Κέντρου Ιστοσυμβατότητας, Γ.Ν. “Γ. Γεννηματάς”, Αθήνα

Εισαγωγή στους κλώνους που δημιουργούν προβληματισμούς

Η δυνατότητα ανίχνευσης μονοκλωνικών Β λεμφοκυτταρικών πληθυσμών ακόμη και σε πολύ χαμηλά ποσοστά με την κυτταρομετρία ροής, στο αίμα στο μυελό αλλά και σε κυτταρικά εναιωρήματα βιολογικών υγρών, δημιουργεί σε αρκετές περιπτώσεις έντονο προβληματισμό, ειδικά αν δεν υπάρχει προφανές λεμφοϋπερπλαστικό νόσημα. Ο ίδιος προβληματισμός είχε απασχολήσει τον αιματολόγο πολύ παλαιότερα με την μονοκλωνική γαμμαπάθεια αδιευκρίνιστης σημασίας (MGUS), όπου δεν υπήρχε κυτταρικό αλλά ηλεκτροφορητικό κλωνικό εύρημα. Σήμερα μπορούμε να μελετήσουμε τα κλωνικά πλασματοκύτταρα που βρίσκονται πίσω από ένα MGUS, οπότε και στην περίπτωση αυτή μικροί κλωνικοί πλασματοκυτταρικοί πληθυσμοί θα προβληματίσουν το εργαστήριο κυτταρομετρίας και τους θεράποντες. Μερικές φορές οι Β λεμφοκυτταρικοί και οι πλασματοκυτταρικοί πληθυσμοί δεν είναι τόσο μικροί αλλά εμφανίζονται σαν λεμφοκυτταρώσεις και πλασματοκυτταρικές αθροίσεις. Όταν δεν υπάρχει κλινική παθολογία που να υποκρύπτεται και όταν διαχρονικά οι κλωνικοί πληθυσμοί μένουν σταθεροί ή εξελίσσονται αργά, τότε η κλινική τους σημασία είναι αδιευκρίνιστη και προβληματίζουν τον αιματολόγο, ως προς τα αν είναι νοσήματα και πώς θα ενεργήσουν απέναντι σε ένα παθολογικό εργαστηριακό εύρημα σε ένα φαινομενικά υγιές άτομο.

Όταν αυτοί οι πληθυσμοί βρεθούν σε βιοπτικό υλικό χωρίς μορφολογικά ευρήματα λεμφώματος, η κατάσταση περιπλέκεται ακόμη περισσότερο. Η δυνατότητα της κυτταρομετρικής μελέτης των Vb αλυσίδων του TCR στους Τ λεμφοκυτταρικούς υπο-

πληθυσμούς, έδωσε νέες δυνατότητες στην αναζήτηση πληθυσμών με τις λεγόμενες *επιλεκτικές (restricted) εκφράσεις* TCR Vβ. Η *επιλεκτικότητα και η κλωνικότητα*, χωρίς να είναι ισοδύναμοι όροι συνδέονται μεταξύ τους Το κλωνόγραμμα έδειξε τη χρησιμότητά του σε Τ λεμφώματα, αλλά παράλληλα άνοιξε νέες πηγές προβληματισμού, όταν Τ- κλωνικοί πληθυσμοί προέκυπταν ως εργαστηριακό εύρημα σε μη λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα (πρβλ. ουδετεροπενίες) ή σε υγιή άτομα. Κατ’ αναλογία με τα Β κύτταρα και τα πλασματοκύτταρα δημιούργησε την ομάδα Τ κλωνικών πληθυσμών αδιευκρίνιστης σημασίας. Με το ίδιο σκεπτικό ακόμη και μικροί κλώνοι παροξυσμικής νυκτερινής αιμοσφαιρινουρίας (PNH) χωρίς παθολογικά ευρήματα θα μπορούσαν να μπουν στην ίδια ομάδα προβληματισμού.

Πριν προχωρήσουμε στην επί μέρους θεματολογία ανά είδος κυττάρου, θα θέλαμε να αναφερθούμε σε μερικούς κοινούς προβληματισμούς που προκύπτουν σε όλες αυτές τις περιπτώσεις και να τους κωδικοποιήσουμε κατά κάποιο τρόπο υπό μορφή διαφόρων πιθανών σεναρίων που πρέπει να περάσουν από το μυαλό του αιματολόγου. Τα σενάρια αυτά θα τα διαβαθμίσουμε ανάλογα με το άτομο στο οποίο προέκυψε το εύρημα, τις συνθήκες διερεύνησης, το μέγεθος του κλώνου και τα συνοδά κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα. Στη συνέχεια ανάλογα με το σενάριο θα μπουν και οι προβληματισμοί για τις ενέργειες που πρέπει να γίνουν ή να μη γίνουν με το Ιπποκράτειο σκεπτικό «ωφελείν ή μη βλάπτειν». Προτείνεται η εξής κατηγοριοποίηση: α) **Ο τυχαίος κλώνος** που ανιχνεύεται σε υγιή άτομα που δεν είχαν κάποιο άλλο εργαστηριακό ή κλινικό εύρημα προς διερεύνηση, στα πλαίσια προγραμματισμένου ελέγχου (check-up) ή

κάποιας μελέτης (αιμοδότες, ή μάρτυρες) και στα οποία ο ενδελεχέστερος έλεγχος δεν βρίσκει υποκείμενο νόσημα. β) **Ο παθολογικός κλώνος** που οδηγεί στη διάγνωση ενός υποκειμένου νοσήματος ή συνδέεται αιτιοπαθογενετικά με το νόσημα του ασθενούς. Ανευρίσκεται σε διαγνωστικό έλεγχο για κάποιο πρόβλημα (λ.χ. κρουσφαιριναιμία¹). Η περίπτωση αυτή εννοείται ότι *δεν αφορά μια προφανή παθολογική οντότητα στην οποία στοιχειοθετείται διάγνωση με τον φαινότυπο, την κλωνικότητα και τα υπόλοιπα ευρήματα*. Αφορά ένα εύρημα χωρίς προφανή αιτιολογία που οδηγεί σε προβληματισμό αν πρόκειται για ένα υποκείμενο νόσημα το οποίο γίνεται αντιληπτό μέσα από το εύρημα του κλώνου και απαιτείται έλεγχος να αποκαλυφθεί, ώσπου τελικά αποκαλύπτεται και είναι συνήθως είτε αιματολογική κακοήθεια, ή αυτοάνοσο νόσημα. λοιμώδες νόσημα ή νεοπλασία. Η σχέση του κλώνου με το νόσημα μπορεί να είναι άμεση, δηλαδή να είναι το ίδιο το λέμφωμα ή έμμεση, δηλαδή να έχει σχέση με ένα συμπαγή όγκο σαν αντιδραστικός πληθυσμός. **Ο κλώνος βοηθάει στη διάγνωση ενός σημαντικού προβλήματος που ζητάει άμεση αναγνώριση και επίλυση.** γ) **Ο κλώνος αδιευκρίνιστης σημασίας** για τον οποίο δεν βρέθηκε κάτι που να τον συνδέει με μια υποκείμενη παθολογία ούτε προκαλεί αυτή τη στιγμή κλινικό πρόβλημα στον ασθενή, χωρίς να σημαίνει ότι δεν προκαλεί ανησυχία σε συνδυασμό με ένα εργαστηριακό εύρημα όπως η αναστροφή τύπου και η παραπρωτεΐνη. Εδώ μπαίνουν μια σειρά από ερωτήματα που οφείλουν να προβληματίσουν τον αιματολόγο και συγκεκριμένα: α) *Μήπως είναι η αρχή ενός αιματολογικού νοσήματος (λεμφώματος, μυελώματος) που θα εξελιχθεί σε άλλοτε άλλο χρονικό διάστημα και θέλει παρακολούθηση* β) *Μήπως είναι μια in situ κατάσταση που δεν εξελίσσεται ή εξελίσσεται βραδέως χωρίς να προκύπτει νόσημα και δεν έχει ανάγκη παρεμβάσεων ή στενής παρακολούθησης* γ) *Μήπως αποτελεί πρώιμο εύρημα για ένα άλλο σοβαρό μη αιματολογικό νόσημα που βρίσκεται σε υποκλινικό επίπεδο και θα εμφανιστεί στο άμεσο μέλλον (λχ ένα συμπαγή όγκο).*

Κλωνικοί πληθυσμοί Β λεμφοκυττάρων

Οι Β κλωνικοί πληθυσμοί μπορεί να προσαρμοστούν στο πρότυπο των τριών ειδών κλώνων που αναφέραμε. Η μελέτη τους τα τελευταία οκτώ χρόνια έγινε συστηματικά και διεξοδικά ώστε να ξεκαθαριστεί αρκετά η σύγχυση όσον αφορά την σημασία τους. Οι τυχαίοι Β κλώνοι είναι πολύ μικροί σε απόλυτο αριθμό συνήθως κάτω από 100 κύτταρα/κκχ στο αίμα και ο φαινότυπός τους ταιριάζει με εκείνο της Β-ΧΛΛ

(CLL). Δεν εξελίσσονται και δεν χρήζουν ιδιαίτερης παρακολούθησης από τον αιματολόγο. Αποτελούν ένα άκρο του φάσματος της οντότητας της Μονοκλωνικής Β λεμφοκυττάρωσης (MBL). Το κατώτερο όριο της MBL δεν έχει καθοριστεί. Μια πολύ ευαίσθητη κυτταρομετρική ανάλυση «επόμενης γενιάς» μπορεί να αποκαλύψει «κλώνους» μικρότερους από 10 κύτταρα/κκχ σχεδόν σε όλα τα άτομα πάνω από 80 ετών. Οι CLL-like MBL μικροί τυχαίοι κλώνοι στο γενικό πληθυσμό πρέπει να αναγνωρίζονται και να διακρίνονται από τους υπόλοιπους². Όσο αυξάνεται ο απόλυτος αριθμός του CLL-like MBL κλώνου αυξάνεται και ο προβληματισμός του αιματολόγου. Οι τιμές cut-off λύνουν ταξινομικά προβλήματα αλλά δημιουργούν άλλα που σχετίζονται με την κλινική τους σημασία. Είναι εύκολο να θυμάται κανείς δύο τιμές 500 κύτταρα/κκχ και 5000/κκχ. Μεταξύ 500-5000 τοποθετείται ένας *CLL-like MBL κλώνος* αδιευκρίνιστης σημασίας. Θα πρέπει επίσης να διερευνηθεί η πιθανότητα ενός παθολογικού κλώνου ενός ισοδύναμου προς την Β-ΧΛΛ λεμφώματος από μικρά κύτταρα (B-SLL). Όταν υπάρχει ψηλαφητή λεμφαδενοπάθεια η διάγνωση είναι ευκολότερη αλλά όταν τα ευρήματα είναι μόνο απεικονιστικά πρέπει να αναζητηθούν. Όταν βεβαιωθεί ο αιματολόγος ότι έχει ένα CLL-like MBL κλώνο και όχι κύτταρα BSLL, αρχίζουν να διατυπώνονται άλλοι προβληματισμοί.

Πρέπει να τονιστεί ότι *ο ανοσοφαινότυπος είναι ουσιαστικός στο να διακρίνει CLL-like κλώνους από μη CLL-like*. Ποιες παγίδες ελλοχεύουν στην τυποποίηση ενός CLL-like κλώνου? Όπως υπάρχουν τυπικές και άτυπες Β-CLL που διακρίνονται ανοσοφαινοτυπικά έτσι έχουμε τυπικούς και άτυπους Β-CLL-like MBL κλώνους. Επιπλέον όπως υπάρχουν CD5+ λεμφώματα που δεν είναι CLL, έτσι υπάρχουν *CD5+ μη CLL MBL κλώνοι*. Προσοχή υπάρχουν και παθολογικοί CD5+ μη CLL κλώνοι που κρύβουν ένα CD5+ λέμφωμα που πρέπει να διαγνωστεί με άλλοτε άλλη δυσκολία. Για το λόγο αυτό ο αιματολόγος όταν έχει μπροστά του ένα CD5+ κλώνο πρέπει να πάρει τις σωστές απαντήσεις από το εργαστήριο 1) όσον αφορά τον απόλυτο αριθμό του 2) αν είναι CLL (τυπικός ή άτυπος) και αν είναι μη CLL και μοιάζει με κύτταρα μανδύα (MCL), οριακής ζώνης (MZL) ή κάτι άλλο. *Στους CD5+ και CD5- μη CLL κλώνους πρέπει να είναι κανείς πολύ προσεκτικός πριν τους χαρακτηρίσει MBL, χάνοντας την διάγνωση ενός παθολογικού κλώνου*. Οι *CLL-like MBL κλώνοι* αποτελούν πρότυπο κλώνων αδιευκρίνιστης σημασίας. Γνωρίζουμε ότι η Β-ΧΛΛ στο σύνολό της προέρχεται από CLL-like MBL ενώ δεν ισχύει το αντίστροφο, δηλαδή όλοι οι CLL-like MBL δεν εξελίσσονται σε Β-ΧΛΛ. Το όριο των 5000

κλωνικών κυττάρων που έθεσε ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) για να ξεχωρίσει B-ΧΛΛ από MBL σήμερα μοιάζει περισσότερο σχηματικό παρά ποτέ. Υπάρχουν ενδείξεις ότι υψηλότεροι απόλυτοι αριθμοί όπως 10000/κκχ είναι πιο αξιόπιστοι κλινικά στην ανάγκη για θεραπευτική παρέμβαση. Η φυσική ιστορία της B-CLL μοιάζει να είναι συνυφασμένη με εκείνη της CLL-like MBL. Ποιοί είναι οι προγνωστικοί παράγοντες (φαινοτυπικοί, κυτταρογενετικοί, μοριακοί) που θα ξεχωρίσουν μια εξελισσόμενη CLL-like MBL; Οι ιογενείς λοιμώξεις ποιά αιτιοπαθογενετική σημασία έχουν, αν λάβει κανείς υπ' όψιν ότι άτομα μολυσμένα με τον ιό της ηπατίτιδας C (HCV) έχουν αυξημένη επίπτωση CLL-like MBL κλώνων και σε μικρότερο βαθμό μη CLL MBL;³. Χρειάζεται κυτταρομετρία ροής και απεικονιστικός έλεγχος στην παρακολούθηση ενός CLL-like MBL κλώνου; Χρειάζεται να εξεταστεί ο μυελός; Μπορεί το άτομο να γίνει δότης μυελού; Πρέπει να αναζητούμε κλώνους στους στενούς συγγενείς ατόμων με B-ΧΛΛ; 99% των ατόμων με CLL-like MBL κλώνους δεν θα εξελιχθούν ποτέ σε νόσο. Αυτό σημαίνει ότι οι ευαίσθητες εργαστηριακές μέθοδοι ανέδειξαν μια ομάδα «υπό μελέτη» η οποία δεν υπήρχε προς 20ετίας και αυξάνει το κόστος και το άγχος των «ασθενών» και των συγγενών τους. Μήπως τα άτομα αυτά παρόλο που δεν εξελίσσονται σε νόσο, έχουν αυξημένη ευαισθησία στις λοιμώξεις και πρέπει να εμβολιάζονται; Οι απαντήσεις σε όλα αυτά τα ερωτήματα δείχνουν το «αδιευκρίνιστο» της «κλινικής» σημασίας των CLL-like κλώνων⁴.

Αν το τοπίο στους CLL-like κλώνους μοιάζει να ξεκαθαρίζει με την διαμόρφωση ομάδων με χαμηλό και υψηλό απόλυτο αριθμό κλωνικών κυττάρων, στην περίπτωση των μη CLL κλώνων υπάρχει εντονότερος προβληματισμός και ανάγκη να διαχωριστεί ο αδιευκρίνιστος από τον παθολογικό κλώνο. Συνεπώς οι μη CLL κλώνοι απαιτούν μεγαλύτερη προσοχή και προσεκτικότερη διερεύνηση από τον αιματολόγο⁵. Χωρίς να υπάρχει ειδικός φαινότυπος για το λεμφοκύτταρο της οριακής ζώνης (MZL), οι περισσότεροι ερευνητές θεωρούν ότι οι CD5- κλώνοι είναι MZL προέλευσης. Τα ίδια φαινοτυπικά χαρακτηριστικά έχουν τα λεμφοπλασματοκυτταρικά λεμφώματα (LP). Ήδη αναφερθήκαμε σε CD5+ MZL και CD5+ LP. Το λέμφωμα κυττάρων μανδύα (MCL) δεν διακρίνεται αρκετά συχνά με τον ανοσοφαινότυπο από τα CD5+ MZL, οπότε πάντα υπάρχει κίνδυνος να θεωρηθεί MZL ένας MCL κλώνος. Επειδή τελευταία διαπιστώθηκε η ύπαρξη MCL-MBL και indolent MCL, η διάκριση μικρών κλώνων χωρίς σαφή κλινικά στοιχεία μπορεί να είναι δύσκολη. Ο αιματολόγος δεν θα αντιμετωπίσει a priori ένα CD5+ μη CLL κλώνο σαν MZL πριν αποκλείσει

τις υπόλοιπες πιθανότητες παθολογικών μικρών κλώνων όπως MCL και LP-Waldenstrom. Επίσης αναφέρθηκε η σχέση μη CLL κλώνων με HCV κατ' αναλογία με τη συσχέτιση λεμφωμάτων MZL με HCV. Τα όρια μεταξύ μιας μη CLL λεμφοκυττάρωσης, ενός μη CLL-MBL και ενός MZL λεμφώματος απαιτούν περαιτέρω διαγνωστικό έλεγχο. Ελληνική συνεργατική μελέτη ξεκαθάρισε ότι μπορεί να υπάρχουν MZL τα οποία να καλύπτουν ένα φάσμα κλώνων κάτω από 5000/κκχ αλλά και να το υπερβαίνουν, χωρίς να βρεθεί σπληνικό, λεμφαδενικό ή εξωλεμφαδενικό MZL⁶. *Αυτές η οντότητες δεν ταξινομούνται με βάση την WHO και θα μπορούσε να τις κατατάξει κανείς ως νέες οντότητες αδιευκρίνιστων κλώνων.* Μόνο λίγα από αυτά τα περιστατικά εμφάνισαν σπληνομεγαλία στην πενταετία και πολύ λίγα είχαν υποκείμενο MALT που βρέθηκε μετά από έλεγχο του πεπτικού. Κατά συνέπεια οι *MZL κλώνοι αδιευκρίνιστης σημασίας δεν πρέπει να χαρακτηρίζονται εξ αρχής ως λεμφώματα ακόμη και αν υπερβαίνουν τα 5000 κλωνικά Β ανά κκχ.*

Στους μη- CLL-like κλώνους υπάρχουν επίσης περισσότερα ερωτήματα παρά απαντήσεις. Είναι πλέον εύρημα από πολλές ομάδες η παρουσία δικλωνικών MBL σε συνδυασμούς CLL-like και μη CLL-like⁷. Στο γενικό πληθυσμό βρέθηκαν μικροί μη CLL-like κλώνοι⁸. Ένας εκκριτικός μικρός κλώνος λεμφοπλασματοκυττάρων μπορεί να είναι παθολογικός μέσα από τη δράση της παραπρωτεΐνης του. Ακόμη και μικρά ποσοστά κλώνου στο αίμα και το μυελό δεν αθρώνουν τον κλώνο ο οποίος έχει προκαλέσει λ.χ. νεφρική ανεπάρκεια ή αυτοάνοσα παθολογικά στοιχεία (θρομβοπενία, von Willebrand κ.λπ.). *Σε κάθε Β μη CLL-like κλώνο στο αίμα πρέπει να μελετάται ο μυελός και τα πλασματοκύτταρα. Τα κλωνικά πλασματοκύτταρα μαζί με κλωνικά Β λεμφοκύτταρα προσανατολίζουν σε πιθανά λεμφοπλασματοκυτταρικό νόσημα (βλ. στη συνέχεια).* Η παρουσία κλώνων στους ιστούς μέχρι πρότινος ίσως να ήταν ισοδύναμο λεμφώματος. Η αντίληψη αυτή άλλαξε όταν σε βιοψίες λεμφαδένων για άλλους λόγους εκτός από λεμφώματα, όπως για την σταδιοποίηση μη αιματολογικών νεοπλασιών, ανέδειξαν CLL-like κλωνικούς πληθυσμούς μέσα στον λεμφαδένα, χωρίς να εξελιχθούν στη συνέχεια σε BSLL ενώ μερικοί διογκωμένοι λεμφαδένες υποχώρησαν παντελώς⁹. *Η ύπαρξη Β κλώνων αδιευκρίνιστης σημασίας σε ιστικό επίπεδο είναι πλέον μια πιθανότητα που συζητείται σοβαρά από την ιατρική κοινότητα*¹⁰. Αναφέρονται Β κλώνοι στο μυελό σε μυελοδυσπλαστικά και μυελοϋπερπλαστικά νεοπλασμάτα¹¹. Σε αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα Hashimoto ανιχνεύονται κλωνικές MZL-like αθροίσεις μέσα στον θυρεοειδικό ιστό που δεν εξελίσσονται σε λεμφώματα και δεν

χρειάζεται να σπεύσει κάποιος να τα χαρακτηρίσει λεμφώματα πριν δει την φυσική ιστορία της εξέλιξής τους¹².

Κλωνικοί πληθυσμοί Τ λεμφοκυττάρων

Τα Τ λεμφοκύτταρα ανάλογα με τις αλυσίδες του Τ υποδοχέα (TCR) διακρίνονται σε TCRαβ και TCRγδ. Η κυτταρομετρία ροής διαθέτει αντισώματα για την μελέτη κυρίως της β αλλά και της δ αλυσίδας. Ειδικά για την β αλυσίδα τυποποιούνται 24 Vβ υπότυποι της μεταβλητής (V) περιοχής από τους 70 που υπάρχουν. Επειδή σε κάθε ένα TCRαβ+ λεμφοκύτταρο εκφράζεται μόνο ένας τύπος Vβ αλυσίδας υπάρχει η δυνατότητα να βρούμε παθολογικά Τ λεμφοκύτταρα, όμοια ως προς τον τύπο Vβ αλυσίδας μεταξύ τους. Από την μελέτη πολλών φυσιολογικών ατόμων γνωρίζουμε τις αναμενόμενες συχνότητες των Vβ που *απαρτίζουν ένα φυσιολογικό ρεπερτόριο Vβ ή ένα φυσιολογικό κλωνόγραμμα*. Πρακτικά αν κάποια συχνότητα υπερβαίνει το 20% επί του συνόλου των 24 υποτύπων που ελέγχονται, λέμε ότι υπάρχει *επιλεκτικότητα* στην έκφραση της συγκεκριμένης Vβ. Η επιλεκτικότητα και η κλωνικότητα δεν είναι ισοδύναμες έννοιες. Ένας κλώνος εμφανίζει ομοιότητα όχι μόνο στην μεταβλητή αλλά και στην υπερμεταβλητή TCR περιοχή. Αυτό δεν το γνωρίζουμε εκ των προτέρων, οπότε είναι κατανοητό ότι η Vβ ανάλυση αποτελεί μια κατατοπιστική μελέτη για πιθανή κλωνικότητα των TCRαβ λεμφοκυτταρικών πληθυσμών. Το άθροισμα των ποσοστών των 24 Vβ υποτύπων φυσιολογικά καλύπτει μόνο το 40-60% όλων των λεμφοκυττάρων. Αν ένας Vβ τύπος βρεθεί 90% είναι ευνόητο ότι είναι κλωνικός. Αν όμως είναι 30% δεν μπορούμε να είμαστε σίγουροι αν έχουμε κλώνο ή μια επιλεκτική πολυκλωνική ομάδα που την συνδέει η ίδια Vβ. Σε λοιμώξεις ή αυτοάνοσα νοσήματα αυτό μπορεί να παρατηρηθεί, χωρίς να υπάρχει πραγματική κλωνικότητα. Αν το άθροισμα των 24 τύπων είναι 10% τότε λέμε ότι είναι παθολογικά χαμηλό και μας προβληματίζει αν κάποιος Vβ τύπος από εκείνους που δεν περιλάβαμε στο ρεπερτόριό μας, εκφράζεται σε παθολογικά υψηλό ποσοστό, ήτοι το «σιωπηλό» κλωνόγραμμα είναι μια έμμεση ένδειξη επιλεκτικότητας και ίσως και κλωνικότητας. Η μεθοδολογία αυτή είναι κατατοπιστική και ταχεία. Μπορεί να προηγηθεί της μοριακής μελέτης της κλωνικότητας με PCR VDJ αναδιατάξεις των γονιδίων των αλυσίδων (κυρίως της γ)¹³.

Οι αβ λεμφοκυτταρικοί υποπληθυσμοί κυρίως είναι T4 και T8 και εκφράζουν CD4 ή CD8 αντίστοιχα, Υπάρχουν όμως σε κάθε άτομο και δύο μικρότεροι φυσιολογικοί υποπληθυσμοί που συνεκφράζουν CD4

και CD8. Ο κυριότερος από αυτούς είναι έντονα CD4 θετικός με ασθενή έκφραση CD8 και είναι γνωστός ως *T4CD8dim διπλός θετικός αβ+* πληθυσμός. Ο άλλος μικρός διπλός θετικός υποπληθυσμός λέγεται *T8CD4dim*. Τα γδ+ λεμφοκύτταρα δεν μπορούν να μελετηθούν με β αλυσίδες. Οι Vδ είναι λίγες σε αριθμό σε αντίθεση με τις Vβ, ενώ ένα ποσοστό ~70% αποτελείται μόνο από Vδ2 στα φυσιολογικά λεμφοκύτταρα. Μπορούμε να μετρήσουμε κυτταρομετρικά το ποσοστό των Vδ2+ λεμφοκυττάρων και μόνο αν βρεθεί πολύ χαμηλό υπάρχει πιθανότητα παθολογικής επιλεκτικής έκφρασης μιας άλλης δ αλυσίδας¹⁴.

Η σύγχρονη πολυπαραμετρική κυτταρομετρία προσφέρεται στην ταυτόχρονη μελέτη των β υποδοχέων σε όλους τους υποπληθυσμούς των αβ+ λεμφοκυττάρων. Σε λιγότερο από μία ώρα μπορούμε να ξέρουμε αν έχουμε ένα επιλεκτικό εύρημα και σε ποιο πληθυσμό. Το περιοριστικό στοιχείο της μελέτης είναι η απουσία έκφρασης αβ αλυσίδων σε άωρα κύτταρα της Τ σειράς ή σε παθολογικά περιφερικά Τ λεμφώματα με μειωμένη TCR έκφραση. Στις υπόλοιπες περιπτώσεις η μελέτη της επιλεκτικότητας συνδέεται με την αναζήτηση πιθανών Τ κλώνων. Σε ποιες περιπτώσεις θα αναζητήσει ο αιματολόγος πιθανούς Τ κλώνους ή ολιγοκλώνους και με ποιο σκεπτικό. Αν εξαιρέσουμε τα Τ περιφερικά λεμφώματα στα οποία υπάρχει απόλυτη ένδειξη για Vβ ανάλυση με κλωνόγραμμα, θα εστιάσουμε την προσοχή μας σε πιθανούς «ανοσοδραστικούς» Τ λεμφοκυτταρικούς πληθυσμούς σε σχέση με διάφορες πενίες. Η ουδετεροπενία είναι η συχνότερη και η συσχέτισή της με T8 κλώνους είναι γνωστή. Μία ένδειξη για να μελετηθούν τα Τ λεμφοκύτταρα με κλωνόγραμμα είναι η αυξημένη έκφραση κάποιου από τους τρεις κυριότερους NK δείκτες, CD16, CD56 ή CD57. Τα T8 λεμφοκύτταρα με NK δείκτες και επιλεκτικό κλωνόγραμμα αποτελούν ένα μέρος του φάσματος των T-LGL. Η κατάταξη WHO αναφέρει ως λευχαιμία το νόσημα T cell large granular lymphocytic leukemia με απόλυτο αριθμό T8 «μεγάλων λεμφοκυττάρων με κοκκία» LGL πάνω από 2000/κκχ. Μπορεί όμως να έχουμε μικρότερους LGL κλώνους οι οποίοι να είναι παθολογικοί. Μάλιστα αν δεν υπάρχει λεμφοκυττάρωση στο αίμα και ίσως σε μερικές περιπτώσεις λεμφοπενία είναι δύσκολο να υποψιαστεί κανείς T-LGL. Ο κλώνος μπορεί να βρίσκεται σε μεγαλύτερο ποσοστό στο μυελό και για το λόγο αυτό πρέπει να προσδιορίζεται. Μελέτη σε μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα¹⁵, αυτοάνοσες αιμολυτικές αναιμίες και σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας μπορεί να αναδείξει κυτταροτοξικούς Τ κλώνους. Ειδικά TCRγδ κλώνοι έχουν συσχετιστεί αιτιοπαθογενετικά με απλασία της ερυθράς και της μεγακαρυοκυτταρι-

κής σειράς¹⁶. Δεν είναι σπάνια η συνύπαρξη LGL και MBL κλώνων.

Εκτός από τους κυτταροτοξικούς T8 ή γδ κλώνους έχουμε και τους T4/T4CD8dim κλώνους αδιευκρίνιστης σημασίας. Οι κλώνοι αυτοί αφορούν T4 και όχι T8 λεμφοκύτταρα και η σημασία τους είναι ότι έχουν T4 υποδοχέα που συνδέεται με HLA τύπου II αντιγόνα ιστοσυμβατότητας. Ο συνδυασμός TCR-HLA μπορεί κάτω από ορισμένες προϋποθέσεις να μας δείξει την αιτιοπαθογένεια αυτών των κλώνων. Μεταξύ διαφορετικών ασθενών υπάρχουν ομοιότητες στην Vβ του TCR και την DRB1* του HLA υποδοχέα. Στην αρχική Ισπανική μελέτη βρέθηκε ότι χρησιμοποιείται σχεδόν αποκλειστικά ο τύπος Vb13.1 σε άτομα με HLA-DRB1*07:01¹⁷. Η «απόλυτη» αυτή συσχέτιση οδήγησε στην ενοχοποίηση ενός πιθανού αντιγονικού αιτίου στη γένεση του κλώνου αυτού, μιας πρωτεΐνης του CMV¹⁸. Σε Έλληνες ασθενείς με T4/T4CD8dim επιλεκτικούς πληθυσμούς δε φαίνεται η ισχυρή αυτή συσχέτιση. Είναι ενδιαφέρον ότι οι Vβ αλυσίδες συνδέονται κυρίως με HLA-DRB1*16:01¹⁹. Ποιά είναι η σημασία των T4/T4CD8dim κλώνων; Δεν είναι ανοσοδραστικοί αλλά παρατηρούνται σε αυτοάνοσα νοσήματα, συνδέονται με ιογενή αίτια όπως ο CMV και εμφανίζουν μια ύποπτη συσχέτιση με συμπαγή νεοπλασμάτα μερικές φορές πριν εκδηλωθούν²⁰. Για το λόγο αυτό κλώνοι «αδιευκρίνιστης σημασίας» μπορεί να αποκτήσουν σημασία για τον αιματολόγο όταν υποδηλώνουν ότι ο φέρων τον κλώνο «υγιής» πρέπει να διερευνηθεί ή να παρακολουθηθεί στενότερα.

Σε αναλογία με τους μικρούς και μεγάλους κλώνους CLL-like MBL υπάρχουν και μικροί ή μεγάλοι T-LGL κλώνοι. Σε γενικό πληθυσμό ή αιμοδοτές διαπιστώνεται ότι το κλωνόγραμμα των T4CD8dim ή T8CD4dim διπλών θετικών πληθυσμών²¹ είναι επιλεκτικό. Με την αύξηση της ηλικίας η κλωνικότητα και εδώ είναι συχνότερο εύρημα και συνδέεται με τον όρο ανοσογήρανση²². Τα όρια ανοσογήρανσης, αδιευκρίνιστης σημασίας κλωνικότητας, LGL λεμφοκυττάρωσης, παθολογικών LGL κλώνων και LGL λευχαιμιών δεν είναι σαφώς αφορισμένα και στην κλινική πράξη αποτελούν ένα συνεχές φάσμα με αλληλοεπικαλύψεις, τις οποίες πρέπει να αναγνωρίζει ο αιματολόγος.

MGUS και κλωνικοί πληθυσμοί πλασματοκυττάρων

Όπως είπαμε η μονοκλωνική γαμμαπάθεια αδιευκρίνιστης σημασίας (MGUS) ήταν το πρώτο κλωνικό προϊόν πλασματοκυττάρων που με βάση την κυτταρική κλωνική σχηματοποίηση που αναφέρθηκε είναι ένας κλώνος αδιευκρίνιστης σημασίας. Ο ορισμός τους έγινε

αρχικά με βάση την ποσοτικοποίηση της κλωνικής ανοσοσφαιρίνης (κάτω από 3gr/dl). Το ποσοστό των πλασματοκυττάρων (τιμή cut-off) ορίστηκε στο 10%. Σήμερα που η κυτταρομετρία ροής χρησιμοποιείται στην μέτρηση των πλασματοκυττάρων σε δείγμα μυελού, γνωρίζουμε ότι το ποσοστό αυτό αφορά εκτίμηση στο επίχρισμα της αναρρόφησης ή την οστεομυελική βιοψία και όχι το ποσοστό των πλασματοκυττάρων που υπολογίζεται με την κυτταρομετρία, το οποίο είναι συχνά πολύ χαμηλότερο (5 με 10 φορές). Οι μέθοδοι δεν είναι ισοδύναμες. Το κλινικό κριτήριο ίσως είναι και το σημαντικότερο, δηλαδή να μη είναι παθολογικός ο κλώνος επιφέροντας βλάβες σε όργανα-στόχους π.χ. νεφρική βλάβη, αναιμία, υπερασβεστιαμία κ.λπ.

Κατά κανόνα τα MGUS προέρχονται από πλασματοκύτταρα που εκκρίνουν IgG παραπρωτεΐνη. Σπανιότερα τα IgM MGUS χαρακτηρίζονται από έκκριση IgM. Ο παθολογικός IgM πλασματοκυτταρικός κλώνος βρίσκεται κάπου ανάμεσα στην IgM MGUS και το σύνδρομο Waldenstrom. Οι ίδιοι κανόνες ισχύουν για την έρπουσα μακροσφαιριναιμία χωρίς παθολογικά κλινικά στοιχεία και το παθολογικό κλινικό σύνδρομο μακροσφαιριναιμίας. Αν θεωρούμε ότι τα μυελώματα εξελίχθηκαν από ένα μικρό ποσοστό MGUS τότε το IgM MGUS μοιάζει να είναι εξαίρεση γιατί εξελίσσεται σε σύνδρομο Waldenstrom με αύξηση του ποσοστού και επικράτηση των κλωνικών B λεμφοκυττάρων έναντι των πολυκλωνικών φυσιολογικών. Η πολυπαραμετρική κυτταρομετρία σχετικά εύκολα μπορεί να αναδείξει κλωνικούς πλασματοκυτταρικούς και B λεμφοκυτταρικούς πληθυσμούς και να εκτιμήσει την αναλογία τους²³.

Μια σπανιότερη κλωνική εξέλιξη είναι η αμυλοείδωση ελαφρών αλύσων και η πολύ σπανιότερη IgM αμυλοείδωση. Το σύνδρομο Waldenstrom και η αμυλοείδωση ελαφρών αλύσων δεν έχουν σχέση με το μέγεθος του πλασματοκυτταρικού κλώνου αλλά με την παθολογική του δράση. Αν ένας πλασματοκυτταρικός κλώνος σχετίζεται με παραπρωτεΐναιμική απομυελινωτική νευροπάθεια (PDN) χωρίς στοιχεία μυελώματος, δεν είναι MGUS ούτε μυέλωμα αλλά ένας παθολογικός πλασματοκυτταρικός κλώνος. Το κλωνικό φάσμα εξελίσσεται όταν υπάρχουν στοιχεία οστεοσκληρωτικού μυελώματος ή πολυκεντρικής νόσου Castleman με λεμφαδενοπάθεια, οπότε έχουμε ένα σύνδρομο POEMS. Η παρανεοπλασματική δράση ενός παθολογικού πλασματοκυτταρικού κλώνου πρέπει να αποτελέσει αντικείμενο έλεγχου από τον αιματολόγο. IgM παραπρωτεΐνη και PDN σημαίνει ότι πρέπει να γίνει έλεγχος IgM αντισωμάτων έναντι νευροπρωτεΐνων. Η ίδια διάκριση παθολογικού και αδιευκρίνιστης σημασίας κλώνου σε ιστικό επίπεδο

αυτή τη φορά για τα πλασματοκύτταρα είναι *το μονήρες πλασματοκύττωμα*. Αρνητικός έλεγχος ελάχιστης νόσου στο μυελό με κυτταρομετρία αλλά και στους υπόλοιπους ιστούς με MRI και απουσία βλάβης οργάνων-στόχων (end organ damage) διαμορφώνει ένα εντοπισμένο εξωμυελικό πλασματοκυτταρικό κλώνο «πλασματοκύττωμα αδιευκρίνιστης σημασίας».

Οι πλέον εκτεταμένες πληθυσμιακές μελέτες της MGUS είναι γνωστό ότι έχουν γίνει από τους Kyle και συν. Τα γνωστά ποσοστά είναι 3% των ατόμων άνω των 50 και 10% άνω των 70 ετών και από αυτά 1% ανά έτος εξελίσσονται σε μύελωμα²⁴. Η συσχέτιση με συμπαγείς όγκους είναι επίσης γνωστή. Ήδη είδαμε και την συσχέτιση T4CD8dim LGL κλώνων με συμπαγείς νεοπλασίες. Άλλη παρατήρηση είναι ότι η MGUS και το μύελωμα έχουν διπλάσια συχνότητα στους Αφρο-Αμερικανούς παρά στους λευκούς, ενώ το σύνδρομο Waldenstrom είναι διπλάσιο στους λευκούς²⁵. Η εξέλιξη ενός κλώνου πλασματοκυττάρων από MGUS σε έρπον μύελωμα (indolent) και τελικά σε επιθετικό πολλαπλούν μύελωμα, αποτελεί ένα πρότυπο μετατροπής ενός αδιευκρίνιστης σημασίας κλώνου σε παθολογικό. Όπως και με την MBL και τις LGL μας ενδιαφέρει αν μπορούμε να προβλέψουμε αυτή την εξέλιξη. Η απάντηση σε όλες τις περιπτώσεις είναι όχι με βεβαιότητα αλλά με στατιστικές ενδείξεις σε ορισμένες υποομάδες με συγκεκριμένα φαινοτυπικά, μοριακά και κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά. Πάντα όμως χωρίς αυτό να σημαίνει ότι πρέπει να λάβουμε προληπτικά θεραπευτικά μέτρα αλλά δεν αποκλείει την δυνατότητα «παρακολούθησης» του κλώνου. Αν και οι κυτταρογενετικές βλάβες που απαντώνται σε όλα τα στάδια μοιάζουν να είναι οι ίδιες, φαίνεται ότι διαφέρει το ποσοστό των κυττάρων του κλώνου που τις εμφανίζει²⁶.

Οι φαινοτυπικές διαφορές μεταξύ παθολογικών και φυσιολογικών πλασματοκυττάρων φαίνεται ότι έχουν μεγάλη σημασία όχι μόνο για τη διάγνωση αλλά και την πιθανολόγηση της εξέλιξης μιας MGUS σε μύελωμα. Αντιγόνο με μεγάλη ευαισθησία και συγχρόνως μεγάλη ειδικότητα διάκρισης φυσιολογικών και παθολογικών πλασματοκυττάρων φαίνεται να είναι το CD81, που το εκφράζουν έντονα τα φυσιολογικά πλασματοκύτταρα, ενώ αρνητικοποιείται στα παθολογικά²⁷. Αντιγόνα με μεγάλη ευαισθησία και μικρή ειδικότητα παρατηρούνται στα παθολογικά πλασματοκύτταρα αλλά και σε μικρούς υποπληθυσμούς φυσιολογικών πλασματοκυττάρων πρβλ αρνητικό CD19 στα μυελωματικά και θετικό στα φυσιολογικά πλασματοκύτταρα. Ενδιάμεσα αντιγόνα με αλληλοεπικάλυψη μικρή ή μεγαλύτερη είναι τα CD45, CD56, CD27 και CD200. Η πολυπαραμετρική κυτταρομετρική ανάλυση μπορεί να προσδιορίσει

το ποσοστό των παθολογικών πλασματοκυττάρων επί του συνόλου των πλασματοκυττάρων σε δείγμα μυελού. Στην MGUS συνυπάρχουν παθολογικά και φυσιολογικά πλασματοκύτταρα ενώ όσο εξελίσσεται η MGUS σε μύελωμα επικρατούν τα παθολογικά. Ένα υψηλό ποσοστό παθολογικών πλασματοκυττάρων (ίσο ή μεγαλύτερο από 95% στη δεξαμενή των πλασματοκυττάρων) κατά τη διάγνωση MGUS βρέθηκε να σημαίνει υψηλό ρίσκο εξέλιξης σε έρπον ή πολλαπλούν μύελωμα με ανεξάρτητη προγνωστική αξία από τους υπόλοιπους γνωστούς προγνωστικούς παράγοντες όπως η ανοσοσπάρηση ή η DNA ανευπλοειδία²⁸.

Ανακεφαλαίωση

Ο αιματολόγος μπορεί να βρεθεί αντιμέτωπος με ένα κλωνικό κυτταρικό πληθυσμό, ο οποίος μερικές φορές είναι αρκετά μεγάλος (πρβλ λεμφοκυττάρωση) ή παίρνει και ιστολογικά εντοπισμένη έκφραση (πρβλ κλωνική λεμφοκυτταρική ή πλασματοκυτταρική συνάθροιση). Σε άλλες περιπτώσεις μπορεί να λάβει μια μέτρηση ενός πολύ μικρού κλώνου (κατά κανόνα με κυτταρομετρία) και να προβληματιστεί αν έχει κλινική σημασία και υποκρύπτεται ένα λέμφωμα ή ένας συμπαγής όγκος. Τέλος καλείται να αντιμετωπίσει την ανησυχία των ατόμων (όχι ασθενών) που δεν μπορούν να διαχειριστούν την πληροφορία ενός κλώνου αδιευκρίνιστης σημασίας (MBL, MGUS, LGL). Το μήνυμα σε όλες τις περιπτώσεις είναι να προσέξει να μη «χάσει» ένα παθολογικό κλώνο, να μη δώσει θεραπεία σε ένα κλώνο αδιευκρίνιστης σημασίας και να εφησυχάσει τα άτομα με τυχαίους κλώνους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. De Vita S, De Re V, Gasparotto D, Ballare M, Pivetta B, Ferraccioli G et al. Oligoclonal non-neoplastic B cell expansions is the key feature of type II mixed cryoglobulinemia. Clinical and molecular findings do not support a bone marrow pathologic diagnosis of indolent B cell lymphoma. Arthritis and Rheumatism 2000;43:94-102.
2. Fazi C, Scarfo L, Pecciarini L, Cottini F, Dagklis A, Janus A et al. General population low count CLL-like MBL persists over time without clinical progression, although carrying the same cytogenetic abnormalities of CLL. Blood 2011;118:6618-6625.
3. Fazi C, Dagklis K, Cottini F, Scarfo L, Bertilaccio MTS, Finazzi R et al. Monoclonal B lymphocytosis in Hepatitis C Virus Infected individuals. Cytometry B 2010;78B S1:S61-S68.
4. Scarfo L, Ghia P. What does it mean I have a Monoclonal B-cell lymphocytosis?: Recent insights and new challenges. Seminars in Oncology 2016;43:210-208.
5. Kalpadakis C, Pangalis G, Sachanas S, Vassilakopoulos

- T, Kyriakaki S, Korkolopoulou P, et al. New Insights into Monoclonal B-cell Lymphocytosis. *Bio Med Research International* 2014, article ID 258917:1-11.
6. Xochelli A, Kalpadakis C, Gardiner A, Baliakas P, Vasiliakopoulos T, Mould S, et al. Clonal B-cell lymphocytosis exhibiting immunophenotypic features consistent with marginal zone origin: is this a distinct entity? *Blood* 2014;123:1199-1206.
 7. Kostopoulos I, Paterakis G, Papadimitriou K, Pavlidis D, Tsitsilonis O, Papadimitriou SI. Immunophenotypic analysis reveals heterogeneity and common biologic aspects in monoclonal B-cell lymphocytosis. *Genes Chromosomes Cancer* 2015;54:2100221.
 8. Nieto W, Teodosio C, Lopez A, Rodriguez-Caballero A, Romero A, Barcena P et al. Non-CLL like Monoclonal B-cell lymphocytosis in the General population: Prevalence and Phenotypic/Genetic characteristics. *Cytometry B* 2010;78B:(Suppl 1):S24-S34.
 9. Gibson S, Swerdlow S, Ferry J, Surti U, Dal Cin P, Harris N, et al. Reassessment of small lymphocytic lymphoma in the era of monoclonal B lymphocytosis. *Haematologica* 2011;96:1144-1152.
 10. Ghia P. Another piece of the puzzle: Is there a “nodal” monoclonal B-cell lymphocytosis? *Haematologica* 2011; 96:1089-1091.
 11. Pajior L, Lacza A, Kereskai L, Jakso P, Egyed M, Inanyi J et al. Increased incidence of monoclonal B cell infiltrate in chronic myeloproliferative disorders. *Modern Pathology* 2004;17:1521-1530.
 12. Chen H, Akpolat I, Mody D, Lopez-Terrada D, Ponce de Leon A, Luo Y et al. Restricted κ/λ light chain ratio by flow cytometry in germinal center B cells in Hashimoto Thyroiditis. *Am J Clin Pathol* 2006;125:42-48.
 13. Ohgami R, Ohgami J, Pereira I, Gitana G, Zehnder J, Arber D. Refining the diagnosis of T-cell Large Granular Lymphocytic leukemia by combining distinct patterns of antigen expression with T cell clonality studies. *Leukemia* 2011;25:1439-1443.
 14. Sandberg Y, Almeida J, Gonzalez M, Lima M, Barcena P, Szczepanski T et al. TCRγδ+large granular lymphocytic leukemias reflect the spectrum of normal antigen selected TCRγδ+ T cells. *Leukemia* 2006;20:505-513
 15. Huh Y, Medeiros J, Ravandi F, Konoplev S, Jorgensen J, Miranda R. T-cell large granular lymphocytic leukemia associated with Myelodysplastic syndromes. *Am J Clin Pathol* 2009;131:347-356
 16. Chen Y, Chadburn A, Evens A, Winter J, Gordon L, Chenn A, et al. Clinical, Morphologic, Immunophenotypic, and Molecular Cytogenetic assessment of CD4-/CD8- γδ T-cell Large Granular Lymphocytic Leukemia. *Am J Clin Pathol* 2011;136:289-299
 17. Garrido P, Ruiz Cabello F, Barcena P, Sandberg Y, Canton J, Lima M et al. Monoclonal TCR Vb13.1+/CD4+/Nka+/CD8-/+ dim T-LGL lymphocytosis: evidence for an antigen driven chronic T stimulation origin. *Blood* 2007;109:4890-4898
 18. Rodriguez-Caballero A, Garcia-Montero A, Barcena P, Alemeida J, Ruiz-Cabello F, Tabernero M et al. Expanded cells in monoclonal TCR-αβ+/CD4+/NKa+/CD8-/+dimT-LGL lymphocytosis recognize hCMV antigens. *Blood* 2008;112:4609-4616
 19. Paterakis G, Siorenta A, Vrani V, Vasileiou P, Iniotaki A. Lack of TCR Vb 13.1 and HLA-DRB1*07:01 association in Greek patients with monoclonal TCRαβ+/CD4+/CD-8dim Large Granular Lymphocytosis (T4-LGL). *ESCCA* 2015;PAR-10-02:35
 20. Lima M, Almeida J, Teixeira M, Alguero M, Santos A, Barcena P et al. TCRαβ+/CD4+ Large Granular Lymphocytosis. *Am J Pathol* 2003;163:763-771.
 21. Lambert C, Iobagiu C, Genin C. Persistent oligoclonal CD4dim CD8+ T cells in peripheral blood. *Cytometry B* 2005;66B:10-17.
 22. Ghia P, Prato G, Stella S, Scielzo C, Geuna M, Caligaris-Cappio F. Age dependent accumulation of monoclonal CD4+CD8+ double positive T lymphocytes in the peripheral blood of the elderly. *British Journal of Haematology* 2007;139:780-790.
 23. Paiva B, Montes M, Carcia-Sanz R, Ocio E, Alonso J, de Las Heras N et al. Multiparameter flow cytometry for the identification of the Waldenstrom’s clone in IgM MGUS and Waldenstrom’s Macroglobulinemia: new criteria for differential diagnosis and risk stratification. *Leukemia* 2014;28:166-173.
 24. Palladino C, Bruno B, Boccadoro M. Discovering the meaning of monoclonal gammopathy of undetermined significance: current knowledge, future challenges. *Translational Medicine* 2014;8:12-18.
 25. McMaster M, Landgren O. Prevalence, clinical aspects, and natural history of IgM MGUS. *Cytometry B* 2010;78B:(Suppl 1):S91-S97.
 26. Lopez-Corral L, Gutierrez N, Vidriales M, Mateos M, Rasillo A, Garzia-Sanz R et al. The progression from MGUS to smoldering myeloma and eventually to multiple myeloma involves a clonal expansion of genetically abnormal plasma cells. *Clin Cancer Res* 2011;17:1692-1700.
 27. Tembhare P, Yuan C, Venzon D, Braylan R, Korde N, Manasanch E, et al. Flow Cytometric differentiation of abnormal and normal plasma cells in the bone marrow of patients with multiple myeloma and precursor diseases. *Leuk Res* 2014;38:371-386.
 28. Perez-Persona E, Vidriales M, Mateo G, Garzia-Sanz R, Mateos M, Garcia de Coca A et al. New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood* 2007;110:2586-2592.

Συγγενείς Δυσερυθροποιητικές Αναιμίες

ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ ΠΡΕΜΕΤΗΣ

Βιολόγος, Αιματολογικό Εργαστήριο, Γ.Ν. Παίδων «Η Αγία Σοφία», Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι Συγγενείς Δυσερυθροποιητικές Αναιμίες (Congenital Dyserythropoietic Anemias CDAs) αντιπροσωπεύουν μία ομάδα σπάνιων κληρονομικών αιματολογικών διαταραχών, που χαρακτηρίζονται από μη αποδοτική ερυθροποίηση και ιδιαίτερες μορφολογικές διαταραχές των ερυθροβλαστών στο μυελό των οστών. Με βάση κυρίως τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ερυθροβλαστών, κατατάσσονται σε CDA I, CDAII, και CDAIII¹ ενώ στη βάση δεδομένων Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) περιλαμβάνονται έξι διαφορετικοί τύποι: CDA Ia και Ib, CDA II, CDA III, CDA IV, και XLTDA (Thrombocytopenia X-linked with or without dyserythropoietic anemia, φυλοσύνδετη θρομβοπενία με ή χωρίς δυσερυθροποιητική αναιμία). Αυτή η κατάταξη συνεχώς εμπλουτίζεται με την ανακάλυψη νέων γονιδίων υπευθύνων για τους φαινοτύπους της δυσερυθροποιητικής αναιμίας. Αν και ο παθογενετικός μηχανισμός των Συγγενών Δυσερυθροποιητικών Αναιμιών δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι οι CDAs οφείλονται σε βλάβες είτε στην αντιγραφή του DNA είτε στην κυτταρική διαίρεση. Σύμφωνα με την εκτίμηση των Heimpel και συν. το 2010, ο επιπολασμός των CDAs² ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των διαφόρων περιοχών της Ευρώπης με τις μικρότερες τιμές 0.04/εκατομμύριο να εμφανίζονται στη Β. Ευρώπη και τις υψηλότερες τιμές στις χώρες της Μεσογείου κυρίως στην Ιταλία (2.49/εκατομμύριο).

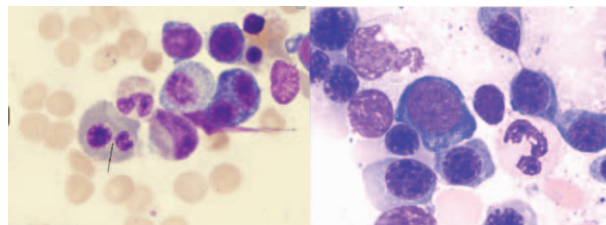
Συγγενής Δυσερυθροποιητική Αναιμία τύπου I (CDA I)

Είναι μακροκυτταρική αναιμία με σχετική δικτυοε-

ρυθροκυτταροπενία. Κατά την παιδική ηλικία μπορεί να είναι ορθόχρωμη ορθοκυτταρική³. Στην περιφέρεια παρατηρούνται ανισοκυττάρωση, βασεόφιλη στίξη και ποικιλοκυττάρωση με δακρυοκύτταρα και μεγάλα ακανόνιστου σχήματος μακροκύτταρα και πιθανόν ώριμοι ερυθροβλάστες. Στο μυελό υπάρχει υπερπλασία της ερυθράς σειράς. Το 30-60% των πολυχρωματόφιλων ερυθροβλαστών εμφανίζουν ανωμαλίες στον πυρήνα καθώς και στη δομή της χρωματίνης. Μικρό ποσοστό (3.5-7%) των ερυθροβλαστών εμφανίζει δίλοβους ή πολύλοβους πυρήνες. Η παρουσία λεπτών γεφυρών χρωματίνης μεταξύ ενός ζεύγους ερυθροβλαστών ή μεταξύ δύο πυρήνων ενός μόνο κυττάρου (Εικόνα 1) αποτελεί παθογνωμονικό στοιχείο της CDA I⁴.

Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο η ετεροχρωματίνη των ενδιάμεσων ή ωρίμων ερυθροβλαστών έχει σπογγώδη εμφάνιση «δίκην ελβετικού τυριού».

Όλοι οι ασθενείς αναπτύσσουν σπληνομεγαλία στην εφηβεία ή στην ενήλικη ζωή⁵. Στο 20% των περιπτώσεων εμφανίζονται συγγενείς ανωμαλίες, κυρίως συνδακτυλία στα πέλματα ή τις παλάμες, απουσία ονύχων ή υπεράρθρομα δάκτυλα⁶ όπως επίσης



Εικόνα 1. Μυελός των οστών στη CDA I (παρατηρούνται γέφυρες χρωματίνης).

δυσμορφία στο θώρακα δίκην «θώρακα περιστεριού» και κοντό ανάστημα⁷. Έχει περιγραφεί έκπτυξη του ερυθροειδικού μυελού στα οστά του εγκεφαλικού κρανίου. Αγγειοειδείς ταινίες και βλάβες της ωχράς κηλίδας με μείωση της οπτικής οξύτητας βρέθηκαν σε μεμονωμένες περιπτώσεις ασθενών⁸. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν σποραδικές περιπτώσεις εμβρικού ύδρωπα. Κατά τη γέννηση νεογνά με CDA I μπορεί να εμφανίσουν ηπατομεγαλία και ίκτερο⁶. Πρόσφατα, περιγράφηκε επίμονη πνευμονική υπέρταση σε νεογνά με CDA I με ή χωρίς δυσμορφία στο θώρακα⁷.

Η CDA I κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας. Το γονίδιο CDAN1 (chr15q15.2)⁹ ήταν το πρώτο γονίδιο στο οποίο βρέθηκαν μεταλλάξεις στη CDA I. Το CDAN1 κωδικοποιεί την κωδανίνη-1 (codanin-1) η οποία βρίσκεται στον πυρήνα του κυττάρου (κυρίως στην ετεροχρωματίνη). Η ρύθμισή της γίνεται σε επίπεδο μεταγραφής από τον παράγοντα E2F1, γεγονός που οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων της κατά τη διάρκεια της φάσης S του κυτταρικού κύκλου. Αν και η λειτουργία της κωδανίνης-1 παραμένει άγνωστη, η σπογγώδης εμφάνιση της ετεροχρωματίνης, υποδεικνύει ένα πιθανό ρόλο της πρωτεΐνης στην οργάνωση της ετεροχρωματίνης κατά την αντιγραφή του DNA¹⁰. Ένας επιπλέον παθογενετικός μηχανισμός εμπλέκει την κωδανίνη-1 με το κυτταροπλασματικό σύμπλοκο Asf1-H3-H4-impotin-4, το οποίο συνδέεται με τον σχηματισμό και την αποικοδόμηση του νουκλεοσώματος¹¹. Cdan1 κnockout ποντίκια πεθαίνουν κατά την κύηση, πριν την έναρξη της ερυθροποίησης, γεγονός που υποδεικνύει σημαντικό ρόλο της κωδανίνης-1 στην ανάπτυξη του εμβρύου πέραν της ερυθροποίησης¹². Έως σήμερα έχουν βρεθεί περισσότεροι από 100 ασθενείς (CDA Ia) και 30 μοναδικές μεταλλάξεις¹, μερικές από τις οποίες εμφανίζονται με μεγάλη συχνότητα. Συγκεκριμένα, η R1042W αντιπροσωπεύει ιδρυτική μετάλλαξη στον πληθυσμό των Βεδουίνων¹³. Αξίζει να σημειωθεί πως δεν έχει περιγραφεί κανένας ομοζυγώτης μηδενικών μεταλλάξεων του γονιδίου CDAN1. Το 50% των ασθενών με CDA I είναι ομοζυγώτες ή διπλοί ετεροζυγώτες μεταλλάξεων του γονιδίου CDAN1, ενώ στο 30% των περιπτώσεων ανευρίσκεται μόνο ένα μεταλλαγμένο γονίδιο. Πρόσφατα ανακαλύφθηκε και δεύτερο γονίδιο που σχετίζεται με τη CDA I. Συγκεκριμένα, βρέθηκαν δύο μεταλλάξεις στο γονίδιο C15ORF41 (chr 15q14) σε τρεις διαφορετικές οικογένειες Πακιστανών, κατατάσσοντας στους την κατηγορία CDA Ib¹⁴. Οι μεταλλάξεις αυτές ήταν η μεταστροφή c.533T>A (p.L178Q) και η μετάπτωση c.281A>G (p.Y94C). Το γονίδιο C15ORF41 φαίνεται πως κωδικοποιεί μία περιοριστική ενδονουκλεάση με

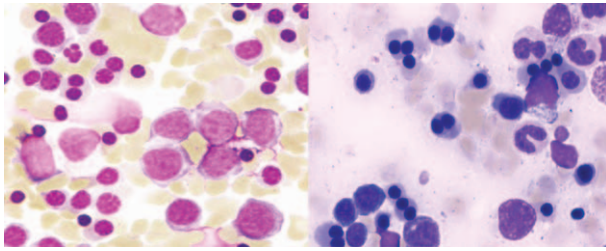
άγνωστη λειτουργία. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί πως η C15ORF41 αλληλεπιδρά με το μοριακό συνοδό ιστονών Asf1b, υποδεικνύοντας πως η πρωτοπαθής βλάβη της CDA1b βρίσκεται στην αντιγραφή του DNA και στην οργάνωση της χρωματίνης¹⁴.

Συγγενής Δυσερυθροποιητική Αναιμία τύπου II (CDA II)

Η CDA II αντιπροσωπεύει τον πιο συχνό τύπο των Συγγενών Δυσερυθροποιητικών Αναιμιών. Καθιερώθηκε από τους Heimpel και Wendt¹⁵ με κριτήρια μορφολογικά χαρακτηριστικά των ερυθροβλαστών στο μυελό των οστών. Αργότερα, ο Crookston¹⁶ και συν. περιέγραψαν δύο σημαντικά εργαστηριακά ευρήματα: (α) τα ερυθρά των περισσοτέρων CDA II ασθενών λύνονται σε οξιμισμένο φρέσκο ABO συμβατό ορό σε αναλογία περίπου 30% (Ham test), αλλά όχι στο δικό τους και (β) παρουσιάζουν anti-i συγκόλληση. Ονόμασε αυτή την κατάσταση HEMPAS (Hereditary Erythroblastic Multinuclearity with Positive Acidified Serum). Η CDA II είναι σπάνια ορθοκυτταρική αναιμία με φυσιολογικό ή ελαφρώς αυξημένο αριθμό δικτυοερυθροκυττάρων, όχι όμως επαρκή για την αντιστάθμιση της αναιμίας. Στο περιφερικό αίμα παρατηρούνται ανισοποικοκυττάρωση (οβαλοκύτταρα, σφαιροκύτταρα, δακρυοκύτταρα), με βασεόφιλη στίξη και πιθανόν λίγοι ώριμοι ερυθροβλάστες⁴. Σε πρόσφατη αναδρομική έρευνα κοόρτης που περιελάμβανε 205 ασθενείς¹⁷, η CDA II εμφανίζεται ως μετρίου βαθμού ορθοκυτταρική αναιμία (Hb 96±2.0 g/L) με μεγάλη όμως ετερογένεια που περιλαμβάνει τόσο ασυμπτωματικούς όσο και ασθενείς με σοβαρή αναιμία (Hb 36-164 g/L). Αξίζει να σημειωθεί πως η μέση ηλικία εμφάνισης συμπτωμάτων ήταν περίπου η ηλικία των 3-4 ετών, αλλά έξι ασθενείς εμφάνισαν συμπτώματα στην ενήλικη ζωή κατά τη διάρκεια της κύησης. Ωστόσο, η μέση ηλικία διάγνωσης είναι 22.2±1.7 έτη. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί είτε από την ήπια συμπτωματολογία ή από το γεγονός ότι η CDA II διαγιγνώσκεται εσφαλμένα ως κληρονομική σφαιροκυττάρωση. Ο μυελός των οστών χαρακτηρίζεται από υπερπλασία της ερυθράς σειράς με πιο χαρακτηριστικό εύρημα την παρουσία ωρίμων δίλοβων ερυθροβλαστών, σε ποσοστό 10-35%⁴ (Εικόνα 2).

Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, οι ώριμοι ερυθροβλάστες εμφανίζουν διακεκομμένη διπλή μεμβράνη⁴ παράλληλη με την πλασματική τους μεμβράνη, εικόνα που οφείλεται στην παρουσία κυστιδίων με πρωτεΐνες-φορτία του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου.

Σε SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis) των πρωτεϊνών



Εικόνα 2. Μυελός των οστών ασθενών με CDAII.

της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων, η band 3 και η ζώνη 4.5 είναι υπογλυκοζυλιωμένες αποτελώντας παθογνωμονικό στοιχείο της CDA II.

Οι ασθενείς εμφανίζουν προοδευτική σπληνομεγαλία, χολολιθίαση και υπερφόρτωση σιδήρου ενδεχομένως με κίρρωση του ήπατος ή καρδιακή ανεπάρκεια.

Η CDA II μεταβιβάζεται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας. Ανήκει στην κατηγορία των ασθενειών που σχετίζονται με διαταραχές των κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών επικάλυψης των κυστιδίων COPII¹⁸, τα οποία μεσολαβούν στην προς τα εμπρός μεταφορά ορθώς πτυχωμένων πρωτεϊνών από το αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο στη συσκευή Golgi. Μεταλλάξεις του γονιδίου SEC23B (chr 20p11.23), το οποίο κωδικοποιεί το ομώνυμο μέλος του πρωτεϊνικού καλύμματος των κυστιδίων COPII, ενοχοποιούνται για τη νόσο^{19,20}. Στις περισσότερες περιπτώσεις (86%), υπάρχουν μεταλλάξεις και στα δύο αλληλόμορφα του SEC23B, αν και σε ένα ποσοστό ασθενών έχει παρατηρηθεί ατελές πρότυπο κληρονομικότητας. Έχουν βρεθεί περισσότερες από 80 διαφορετικές μεταλλάξεις στο SEC23B^{17,21,22}, μερικές από τις οποίες εμφανίζονται με μεγάλη συχνότητα. Ειδικότερα, στη Μεσόγειο (Μαρόκο, Ισραήλ, Ιταλία) οι μεταλλάξεις E109K και η R14W είναι οι συχνότερες^{21,23}, ενώ στη Νοτιοανατολική Ασία, Ινδία και Πακιστάν η μετάλλαξη Y462C καλύπτει το 90% των περιπτώσεων²². Ομοίως οι R18H και η A524V αντιπροσωπεύουν το 50% και το 37.5% αντίστοιχα των μεταλλάξεων στην Ωκεανία, Νέα Ζηλανδία και Γαλλική Πολυνησία¹⁷. Έχει παρατηρηθεί συσχέτιση μεταξύ κλινικής εικόνας και μοριακής ετερογένειας. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι οι ομοζυγώτες ή οι διπλοί ετεροζυγώτες παρερμηνεύσιμων μεταλλάξεων του γονιδίου SEC23B, εμφάνιζαν ενδιάμεσο κλινικό φαινότυπο συγκριτικά με την ομάδα των διπλών ετεροζυγωτών για μία παρερμηνεύσιμη και μία ανερμηνεύσιμη/ή μειωμένης έκφρασης αλληλόμορφο (hypomorphic allele) (ομάδα που είχε τη βαρύτερη κλινική εικόνα) και της ομάδος των ομοζυγωτών για μειωμένης έκφρασης αλληλόμορφο¹⁷.

Παρά τον αυξημένο αριθμό των περιπτώσεων που έχουν περιγραφεί και των μεταλλάξεων που έχουν βρεθεί, ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός της CDA II δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως. Αν και δεν έχει βρεθεί καμία συσχέτιση, το SEC23B μπορεί να διαδραματίζει ενεργό ρόλο στη συναρμολόγηση ή την αποδόμηση του ενδιάμεσου σώματος²⁴ (midbody). Η παρουσία του SEC23B σ' αυτόν τον παροδικό πρωτεϊνικό σχηματισμό του κυττάρου, μπορεί να σχετίζεται με τη διαταραγμένη κυτταροκίνηση των ερυθροβλαστών. Σε αντίθετη περίπτωση, ο πολυπύρηνος φαινότυπος μπορεί να είναι δευτεροπαθής σχετιζόμενος με την ανώμαλη γλυκοζυλίωση συγκεκριμένων πρωτεϊνών οι οποίες είναι απαραίτητες για την κυτταρική διαίρεση²⁵.

Συγγενής Δυσερυθροποιητική Αναιμία τύπου III (CDA III)

Η CDA III είναι η πιο σπάνια από τις κλασικές CDAs. Οι Wolff και Von Hofe το 1951, περιέγραψαν 4 ασθενείς από μία Αμερικανική οικογένεια με γιγαντιαία ερυθροκύτταρα στο περιφερικό αίμα και γιγάντιους πολυπύρηνους ερυθροβλάστες (έως 12 πυρήνες/κύτταρο στον μυελό των οστών. Ονόμασαν αυτή την κατάσταση «οικογενή ερυθροειδική πολυπυρήνωση». Η CDA III περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1962 σε μία μεγάλη οικογένεια από το Västerbotten της Β. Σουηδίας²⁶. Οι ασθενείς είτε δεν έχουν καθόλου αναιμία είτε εμφανίζουν μετρίου βαθμού με φυσιολογικό ή ελαφρώς αυξημένο MCV και φυσιολογικό ή ελάχιστα ελαττωμένο απόλυτο αριθμό ΔΕΚ. Στο επίχρισμα περιφερικού αίματος ανευρίσκονται μακροκύτταρα, ποικιλοκύτταρα και περιστασιακά γιγαντοκύτταρα. Στο μυελό των οστών υπάρχει υπερπλασία της ερυθράς σειράς με τους χαρακτηριστικούς γιγάντιους πολυπύρηνους ερυθροβλάστες²⁶. Η παρατήρηση ερυθροβλαστών στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αποκάλυψε ρωγμές εντός της ετεροχρωματίνης, αυτοφαγοκυτταρικά κενोटόπια, μιτοχόνδρια φορτωμένα με σίδηρο και συσσωματώματα μυελίνης στο κυτταρόπλασμα²⁶. Σε αντίθεση με τις άλλες CDAs, κανένας από τους καταγεγραμμένους ασθενείς δεν έχει ηπατομεγαλία ή σπληνομεγαλία. Η χρώση σιδήρου στο ίζημα ούρων αποκαλύπτει αιμοσιδηρινουρία. Η τιμή της κίνησης της θυμιδίνης στον ορό είναι εξαιρετικά αυξημένη.

Το 2013, μετά την εύρεση του γονιδιακού τόπου για την CDA III στο χρωμόσωμα 15 (chr15q21-q25), έγινε ανάλυση του DNA στα μέλη των προαναφερθεισών οικογενειών και βρέθηκε η ίδια μετάλλαξη P916R στο γονίδιο KIF23 (chr15q21)²⁷. Το γονίδιο KIF23 (Kinesin Family member 23) κωδικοποιεί την πρωτεΐνη MKLP1 (Mitotic Kinesin-Like Protein-1)

που ανήκει στην υπεροικογένεια των κινεσινών και αποτελεί απαραίτητο συστατικό για τον σχηματισμό της κεντρικής ατράκτου και του ενδιάμεσου σώματος, τα οποία είναι απαραίτητα για την κυτταροκίνηση²⁷. Η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη MKLP1 επηρεάζει τη λειτουργία των παραπάνω πρωτεϊνών κατά τη διάρκεια της κυτταροκίνησης, οδηγώντας στο σχηματισμό των μεγάλων πολυπύρηνων ερυθροβλαστών στο μυελό των οστών.

Συγγενής Δυσερυθροποιητική Αναιμία τύπου IV (CDA IV)

Έως σήμερα, έχουν περιγραφεί 4 περιπτώσεις ασθενών με CDA IV^{28,29}. Όλοι πάσχουν από σοβαρή ορθόχρωμη ορθοκυτταρική αναιμία με ανισοποικιλοκυττάρωση, σχιστοκύτταρα, πολυχρωματοφιλία και εμπύρνα ερυθρά. Ο μυελός των οστών χαρακτηρίζεται από υπερπλασία της ερυθράς σειράς, στοιχεία δυσερυθροποίησης όπως βασεόφιλη στίξη πολυχρωματόφιλων ερυθροβλαστών και ερυθροκυττάρων, καθώς και ενδοπυρηνικές γέφυρες. Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ανευρίσκονται άωρα προγονικά ερυθροειδικά κύτταρα με άτυπα ενδοκυτταροπλασματικά έγκλειστα, μεγεθυμένους πυρηνικούς πόρους, εγκόλπωση της πυρηνικής μεμβράνης και εξεσημασμένη ετεροχρωματίνη^{28,29}. Σε αντίθεση με τις κλασσικές CDAs, η τιμή των ΔΕΚ είναι φυσιολογική ή ελαφρώς αυξημένη σε σχέση με τον βαθμό της αναιμίας. Επιπλέον, παρατηρούνται αυξημένες τιμές αιμοσφαιρίνης F (>30%). Σε δύο περιπτώσεις, η αναιμία βρέθηκε στην εμβρυϊκή ζωή, σχετίστηκε με εμβρυϊκό ύδρωπα και αντιμετωπίστηκε με ενδομήτριες μεταγγίσεις. Η αυξημένη γαλακτική αφυδρογονάση και χολερυθρίνη, η μειωμένη αιμοσφαιρίνη και η αυξημένη ευθραυστότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων, χαρακτηρίζουν την αναιμία ως αιμολυτική. Όλοι οι ασθενείς παρουσιάζουν σπληνομεγαλία.

Και οι 4 ασθενείς ήταν ετεροζυγώτες της ίδιας μετάλλαξης (E325K) στο γονίδιο KLF1 (chr19p13.2)²⁸. Το γονίδιο KLF1 κωδικοποιεί τον ομώνυμο μεταγραφικό παράγοντα της ερυθράς σειράς, που αποτελεί μέλος της οικογένειας των παραγόντων Krüppel-like. Η αλληλουχία των αμινοξέων του KLF1 περιλαμβάνει τρεις C2H2 δακτυλίους ψευδαργύρου με εξαιρετικά συντηρημένες περιοχές οι οποίες είναι απαραίτητες για την ενεργοποίηση των γονιδίων-στόχων. Ο KLF1 ασκεί επίσης και μεταγραφική καταστολή στη μεγακαρυοποίηση. Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της αναπτυξιακής μεταστροφής μεταξύ των νεογνικών και ενήλικων αιμοσφαιρίων και απαιτείται για την τελική διαφοροποίηση των ερυθροειδικών

κυττάρων κατά την διάρκεια του κυτταρικού κύκλου. Υπάρχουν πολλά γονίδια-στόχοι που υπάγονται στην ρύθμιση του KLF1: μεταξύ αυτών τα CD44 και AQP1 (ακουαπορίνη 1) τα οποία εμφανίζουν μειωμένη έκφραση στους ασθενείς με CDA IV²⁸.

Παραλλαγές Συγγενών Δυσερυθροποιητικών αναιμιών

Οι παραλλαγές των Συγγενών Δυσερυθροποιητικών αναιμιών είναι είτε μεμονωμένες καταστάσεις που ομοιάζουν με CDA είτε συνδρομικές CDAs.

Συνοπτικά παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Ομοιοστασία του σιδήρου στις CDAs

Σε όλες τις CDAs, εκτός από τη CDA III, παρατηρείται διαταραχή της ομοιοστασίας του σιδήρου. Η δευτεροπαθής αιμοχρωμάτωση αποτελεί την πιο επιβλαβή επιπλοκή στους CDA ασθενείς. Οφείλεται κυρίως στη μη αποδοτική ερυθροποίηση αλλά συνδέεται επίσης τόσο με τις μεταγγίσεις όσο και με το αιμολυτικό στοιχείο αυτών των αναιμιών. Η απορρύθμιση της ομοιοστασίας του σιδήρου προκαλείται από την καταστολή της ηπατικής εψιδίνης, η οποία οδηγεί σε αυξημένη απορρόφηση σιδήρου και συστηματική υπερφόρτωση σιδήρου³⁵. Αρκετοί ερυθροειδικοί ρυθμιστές έχουν προταθεί ως μεσολαβητές σηματοδότησης για την μεταγραφική ρύθμιση του γονιδίου της εψιδίνης. Μεταξύ αυτών, ο Αυξητικός Παράγοντας διαφοροποίησης (Growth Differentiation Factor 15, GDF15) και η διαλυτή Hemojuvelin (s-HJV) προτάθηκαν ως καταστολείς της εψιδίνης στη CDA I και CDA II^{36,37}. Πράγματι, βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα και των δύο μεσολαβητών σε ασθενείς με CDA. Ο πιο πρόσφατος ρυθμιστής της εψιδίνης είναι η ερυθροφερόνη (erythroferrone, ERFE), μία ορμόνη, που παράγεται στους ερυθροβλάστες ως απάντηση στην ερυθροποιητίνη. Η ERFE ανήκει στην υπεροικογένεια των TNF-α και η λειτουργία της στον άνθρωπο παραμένει άγνωστη. Σε μελέτη βρέθηκε υπερέκφραση της ERFE σε ασθενείς με CDA II³⁸ χωρίς να αποτελεί τον κύριο ρυθμιστή της καταστολής της εψιδίνης, τουλάχιστον σε αυτούς τους ασθενείς. Περίπου το 30% των μη-μεταγγιζόμενων ασθενών με CDAII εμφανίζουν τάση για υπερφόρτωση σιδήρου (φερριτίνη >300 μg/L), ενώ το 17% από αυτούς παρουσιάζουν σημαντική αιμοσιδήρωση (φερριτίνη >600 μg/L), πιο σοβαρή στην ενήλικη ζωή συγκριτικά με την παιδική ηλικία¹⁷. Όπως αναμένεται, η υπερφόρτωση με σίδηρο σε μεταγγισιοεξαρτώμενους ασθενείς ήταν ανάλογη με τη συχνότητα των μεταγγίσεων. Σοβαρές

Πίνακας 1. Συνοπτική παρουσίαση των παραλλαγών των Συγγενών Δυσερυθροποιητικών αναιμιών

Όνομα	Γονίδιο χρωμόσωμα	Τύπος κληρονομικότητας	Αριθμός περιπτώσεων	Μυελός των οστών
Φυλοσύνδετη θρομβοπενία με ή χωρίς δυσερυθροποιητική αναιμία ³⁰	GATA1 Χρ11.23	Φυλοσύνδετη υπολειπόμενη	<10	Δυσερυθροποιητικά στοιχεία, χαμηλός αριθμός μεγακαρυοκυττάρων με κυτταροπλασματικά κενोटόπια και απουσία οριοθέτησης της μεμβράνης των αιμοπεταλίων
Φυλοσύνδετη επικρατής μακροκυτταρική δυσερυθροποιητική αναιμία ³¹	ALAS2 Χρ11.21 (Y365C)	Φυλοσύνδετη επικρατής	Μία οικογένεια	Στοιχεία δυσερυθροποίησης και στις τρεις σειρές χωρίς περίσσεια σιδήρου ή σιδηροβλάστες
Σύνδρομο Majeed ³²	LPIN2 18p11.31	Αυτοσωμικός υπολειπόμενος	<10	Δυσερυθροποιητικά στοιχεία, υπερπλασία ερυθράς σειράς και μέχρι 25% διπύρνηνοι και τριπύρνηνοι ερυθροβλάστες
Σύνδρομο ανεπάρκειας της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος, δυσερυθροποίησης και υπερόστωσης του θόλου του κρανίου ³³	COX4I2 20q11.21	Αυτοσωμικός υπολειπόμενος	4	Εξεσημασμένη υπερπλασία ερυθράς σειράς με μεγαλοβλαστικές αλλοιώσεις και διπύρνηνους ή πολυπύρνηνους ερυθροβλάστες
Ανεπάρκεια της κινάσης του μεβαλονικού οξέος με δυσερυθροποιητική αναιμία ³⁴	MVK (V310M/Y116H)	Αυτοσωμικός υπολειπόμενος	1	6-8% των προγονικών ερυθροειδικών κυττάρων εμφανίζουν στοιχεία δυσερυθροποίησης όπως: ανώμαλοι πυρήνες, εκβλαστήσεις των πυρήνων, σχηματισμό διπλού πυρήνα και πυρηνορρηξία

περιπτώσεις αιμοχρωμάτωσης μπορεί να σχετίζονται με συγληρονόμηση μεταλλάξεων του γονίδιο HFE. Για την πρόληψη των κλινικών επιπλοκών, είναι σημαντικό να εκτιμηθεί έγκαιρα η υπερφόρτωση με σίδηρο.

Διαχείριση των CDA ασθενών³⁹

Η πρόληψη, η έγκαιρη ανίχνευση και η σωστή αντιμετώπιση των επιπλοκών είναι σημαντική στους CDA ασθενείς.

Παρακολούθηση ασθενών: Όταν υπάρχει θετικό οικογενειακό ιστορικό, η πρόληψη ξεκινά από την κύηση, με προσεκτική αναζήτηση εμβρυικού ύδρωπα ενώ σε περίπτωση ύπαρξης εμβρυικής αναιμίας, επιβάλλονται ενδομήτριες μεταγγίσεις. Κατά τη γέννηση, οι CDA ασθενείς εμφανίζουν συχνότερα ίκτερο και αναιμία. Στις μικρές ηλικίες, λόγω αυξημένης δραστηριότητας

του μυελού, πρέπει να πραγματοποιείται τακτική αξιολόγηση της γενικής αίματος ενώ αντίθετα το ισοζύγιο σιδήρου, λόγω μικρής πιθανότητας υπερφόρτωσης με σίδηρο στους νεότερους ασθενείς, μπορεί να αξιολογείται λιγότερο συχνά.

Συνοπτικά η παρακολούθηση των CDA ασθενών παρουσιάζεται στον Πίνακα 2.

Επίσης, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι κατά τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας/εφηβείας, η λοίμωξη από παρβοϊό B19 είναι πιο συχνή, με ενδεχόμενη συνέπεια την απλαστική κρίση. Στους CDA II ασθενείς θα πρέπει να γίνεται μοριακός έλεγχος για σύνδρομο Gilbert [A(TA)₂TAA/A(TA)₇TAA στην περιοχή του εκκινητή του γονιδίου UGT1A1]⁴⁰.

Επιπλέον, μέχρι τη δεύτερη δεκαετία, η MRI-T2* και η MRI-R2* θα πρέπει να συνιστώνται κάθε πέντε χρόνια ή όταν τα επίπεδα της φερριτίνης είναι

Πίνακας 2. Παρακολούθηση των CDA ασθενών

	Παιδιά / έφηβοι Μη μεταγγιζόμενοι		
	≤2 ετών	2-10 ετών	10-16 ετών
Γενική αίματος	κάθε 3 μήνες	κάθε 6 μήνες	κάθε 6 μήνες
Εκτίμηση ισοζυγίου σιδήρου (κορεσμός τρανσφερρίνης, φερριτίνη ορού)	κάθε 12 μήνες	κάθε 6 μήνες	κάθε 6 μήνες
Εκτίμηση σπληνός/χοληδόχου κύστεως	κάθε 6 μήνες	κάθε 12 μήνες	κάθε 12 μήνες
Ενήλικες			
	Hb ≤9.0 g/dL	Hb >9.0 g/dL	
Γενική αίματος	κάθε 6 μήνες	κάθε 12 μήνες	
Εκτίμηση ισοζυγίου σιδήρου (κορεσμός τρανσφερρίνης, φερριτίνη ορού)	κάθε 12 μήνες	κάθε 12 μήνες	
Εκτίμηση σπληνός/χοληδόχου κύστεως	κάθε 24 μήνες	κάθε 24 μήνες	
Μεταγγισιοεξαρτώμενοι (παιδιά, έφηβοι και ενήλικες)			
Γενική αίματος	Ανάλογα με το βαθμό της αναιμίας. Πριν και μετά από κάθε μετάγγιση		
Εκτίμηση ισοζυγίου σιδήρου (κορεσμός τρανσφερρίνης, φερριτίνη ορού)	Ανάλογα με τον αριθμό των μεταγγίσεων (συνήθως κάθε 6 μήνες)		
Εκτίμηση σπληνός/χοληδόχου κύστεως	κάθε 12 μήνες		

>600ng/mL¹⁷, προκειμένου να αξιολογηθεί η ηπατική και καρδιακή εναπόθεση σιδήρου. Η συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης B12 και φυλλικού οξέως συνιστάται σε όλους τους CDA ασθενείς ώστε να αποτραπεί η έλλειψη, η οποία είναι κοινή σε σύνδρομο με αναποτελεσματική ερυθροποίηση.

Θεραπευτικές προσεγγίσεις: Η βασική θεραπευτική προσέγγιση CDA ασθενών με σοβαρή αναιμία (Hb < 7g/dL) είναι οι μεταγγίσεις ερυθρών. Σε καταστάσεις χρόνιας σοβαρής αναιμίας, οι ασθενείς μεταγγίζονται τακτικά με συχνότητα εξαρτώμενη από το βαθμό αναιμίας.

Σε επιλεγμένες περιπτώσεις μπορεί να γίνει με-ταμόσχευση μυελού των οστών⁴¹.

Σε ορισμένους CDA I ασθενείς, έχει τεκμηριωθεί κάποια ανταπόκριση στη θεραπεία με ιντερφερόνη-α⁴². Ωστόσο, μέχρι σήμερα έχει αντιμετωπιστεί περιορισμένος αριθμός ατόμων με CDA, με αντικρουόμενα αποτελέσματα.

Μια από τις πιο πολυσυζητημένες πτυχές της διαχείρισης των CDA ασθενών είναι οι ενδείξεις για σπληνεκτομή. Για τη CDA I η σπληνεκτομή είναι αναπόδεικτης αξίας⁴³ και ως εκ τούτου θα πρέπει να εξετάζεται με προσοχή. Δεν έχει περιγραφεί καμία περίπτωση σπληνεκτομής σε ασθενή με CDA III ή CDA IV. Αντίθετα, έχει γίνει σπληνεκτομή σε CDA II

ασθενείς, κυρίως πριν επιτευχθεί η σωστή διάγνωση. Οι μη-μεταγγιζόμενοι CDA II ασθενείς παρουσιάζουν μέτρια αύξηση της συγκέντρωσης της αιμοσφαιρίνης μετά από σπληνεκτομή¹⁷. Στους μεταγγισιοεξαρτώμενους ασθενείς ή σε ασθενείς με σοβαρά συμπτώματα, η σπληνεκτομή μπορεί να ελαττώσει ή να εξαλείψει την ανάγκη για μεταγγίσεις και ταυτόχρονα οδηγεί σε μείωση της συσσώρευσης σιδήρου. Παρά το γεγονός ότι η σπληνεκτομή ενδείκνυται για μεταγγισιοεξαρτώμενους ασθενείς και σε εκείνους με πολύ σοβαρή αναιμία, δεν φαίνεται ότι αναστρέφει το φαινότυπο και επομένως, δεν ενδείκνυται για CDA II ασθενείς με ήπια ή μέτρια αναιμία.

Τέλος, για την αντιμετώπιση της υπερφόρτωσης σιδήρου οι τακτικές αφαιμάξεις αντενδείκνυται λόγω της αναιμίας, οπότε χρησιμοποιούνται οι χηλικοί παράγοντες. Δεν υπάρχουν όμως κατευθυντήριες οδηγίες για την αποσιδήρωση με χηλικούς παράγοντες στους CDA ασθενείς. Συνήθως χρησιμοποιούνται οι οδηγίες των θαλασσαιμικών ασθενών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Iolascon A, Heimpel H, Wahlin A, Tamary H. Congenital dyserythropoietic anemias: molecular insights and diagnostic approach. Blood. 2013;122:2162-2166.

2. Heimpel H, Matuschek A, Ahmed M, et al. Frequency of congenital dyserythropoietic anemias in Europe. *Eur J Haematol.* 2010;85:20-25.
3. Heimpel H, Schwarz K, Ebnöther M, Goede JS, Heydrich D, Kamp T, et al. Congenital dyserythropoietic anemia type I (CDA I): molecular genetics, clinical appearance, and prognosis based on long-term observation. *Blood.* 2006;107:334-340.
4. Heimpel H, Kellermann K, Neuschwander N, Högel J, Schwarz K. The morphological diagnosis of congenital dyserythropoietic anemia: results of a quantitative analysis of peripheral blood and bone marrow cells. *Haematologica.* 2010;95:1034-1036.
5. Iolascon A, Esposito MR, Russo R. Clinical aspects and pathogenesis of congenital dyserythropoietic anemias: from morphology to molecular approach. *Haematologica.* 2012;97:1786-1794.
6. Iolascon A, Russo R, Delaunay J. Congenital dyserythropoietic anemias. *Curr Opin Hematol.* 2011;18:146-151.
7. El-Sheikh AA, Hashem H, Holman C, Vyas YM. Congenital dyserythropoietic anemia type I presenting as persistent pulmonary hypertension with pigeon chest deformity. *Pediatr Blood Cancer.* 2014;61:1460-1462.
8. Tamary H, Offret H, Dgany O, Foliquet O, Wickramasinghe SN, Krasnov T, et al. Congenital dyserythropoietic anaemia, type I, in a Caucasian patient with retinal angioid streaks (homozygous arg1042trp mutation in codanin-1). *Eur J Haematol.* 2008;80:271-274.
9. Dgany O, Avidan N, Delaunay J, Krasnov T, Shalmon L, Shalev H, et al. Congenital dyserythropoietic anemia type I is caused by mutations in codanin-1. *Am J Hum Genet.* 2002;71:1467-1474.
10. Noy-Lotan S, Dgany O, Lahmi R, Marcoux N, Krasnov T, Yissachar N, et al. Codanin-1, the protein encoded by the gene mutated in congenital dyserythropoietic anemia type I (CDAN1), is cell cycle-regulated. *Haematologica.* 2009;94:629-637.
11. Ask K, Jasencakova Z, Menard P, Feng Y, Almouzni G, Groth A. Codanin-1, mutated in the anaemic disease CDAI, regulates Asf1 function in S-phase histone supply. *EMBO J.* 2012;31:2013-2023.
12. Renella R, Roberts NA, Brown JM, De Gobbi M, Bird LE, Hassanali T, et al. Codanin-1 mutations in congenital dyserythropoietic anemia type 1 affect HP1{alpha} localization in erythroblasts. *Blood.* 2011;117:6928-6938.
13. Tamary H, Shalev H, Perez-Avraham G, Zoldan M, Levi I, Swinkels WD, et al. Elevated growth differentiation factor 15 expression in patients with congenital dyserythropoietic anemia type I. *Blood.* 2008;112:5241-5244.
14. Babbs C, Roberts NA, Sanchez-Pulido L, McGowan SJ, Ahmed MR, Brown JM, et al. Homozygous mutations in a predicted endonuclease are a novel cause of congenital dyserythropoietic anemia type I. *Haematologica.* 2013;98:1383-1387.
15. Heimpel H, Wendt F. Congenital dyserythropoietic anemia with karyorrhesis and multinuclearity of erythroblasts. *Helvetica Medica Acta.* 1968;34:103-115.
16. Crookston JH, Crookston MC, Brunie KL, Francombe WH, Dacie JV, Davis JA et al. Hereditary erythroblastic multinuclearity associated with a positive acidified-serum test: a type of congenital dyserythropoietic anaemia. *Br J Haematol.* 1969;17:11-26.
17. Russo R, Gambale A, Langells C, Andolfo I, Unal S, Iolascon A. Retrospective cohort study of 205 cases with congenital dyserythropoietic anemia type II: Definition of clinical and molecular spectrum and identification of new diagnostic scores. *Am J Hematol.* 2014;89:E169-175.
18. Russo R, Esposito MR, Iolascon A. Inherited hematological disorders due to defects in coat protein (COP)II complex. *Am J Hematol.* 2013;88:135-140.
19. Schwarz K, Iolascon A, Verissimo F, Trede NS, Horsley W, Chen W, et al. Mutations affecting the secretory COPII coat component SEC23B cause congenital dyserythropoietic anemia type II. *Nat Genet.* 2009;41:936-940.
20. Bianchi P, Fermo E, Vercellati C, Boschetti C, Barcellini W, Iurlo A, et al. Congenital dyserythropoietic anemia type II (CDAII) is caused by mutations in the SEC23B gene. *Hum Mutat.* 2009;30:1292-1298.
21. Russo R, Gambale A, Esposito MR, Serra ML, Troiano A, De Maggio I. Two founder mutations in the SEC23B gene account for the relatively high frequency of CDAII in the Italian population. *Am J Hematol.* 2011;86:727-732.
22. Sigleton B, Bansal D, Varma N, Das R, Nassem S, Saikia Un, et al. Homozygosity mapping reveals founder SEC23B-Y462C mutations in Indian congenital dyserythropoietic anemia type II. *Clin Genet.* 2015;88:195-197.
23. Amir A, Dgany O, Krasnov T, Resnitzky P, Mor-Cohen R, Bennett M, et al. E109K is a SEC23B founder mutation among Israeli Moroccan Jewish patients with congenital dyserythropoietic anemia type II. *Acta Haematol.* 2011;125:202-207.
24. Skop AR, Liu H, Yates J 3rd, Meyer BJ, Heald R. Dissection of the mammalian midbody proteome reveals conserved cytokinesis mechanisms. *Science.* 2004;305:61-66.
25. Satchwell TJ, Pellegrin S, Bianchi P, Hawley BR, Gampel A, Mordue KE, et al. Characteristic phenotypes associated with congenital dyserythropoietic anemia (type II) manifest at different stages of erythropoiesis. *Haematologica.* 2013;98:1788-1796.
26. Sandström H, Wahlin A. Congenital dyserythropoietic anemia type III. *Haematologica.* 2000;85:753-757.
27. Liljeholm M, Irvine AF, Vikberg AL, Norberg A, Month S, Sandström H, et al. Congenital dyserythropoietic anemia type III (CDA III) is caused by a mutation in kinesin family member, KIF23. *Blood.* 2013;121:4791-4799.
28. Arnaud L, Saison C, Helias V, Lusien N, Steschenko D, Giarratana M-C, et al. A dominant mutation in the gene encoding the erythroid transcription factor KLF1 causes a congenital dyserythropoietic anemia. *Am J Hum Genet.* 2010;87:721-727.
29. Jaffray JA, Mitchell WB, Gnanapragasam MN, Seshan SV, Guo X, Westhoff CM, et al. Erythroid transcription factor EKLF/KLF1 mutation causing congenital dys-

- erythropoietic anemia type IV in a patient of Taiwanese origin: review of all reported cases and development of a clinical diagnostic paradigm. *Blood Cells Mol Dis*. 2013;51:71-75.
30. Nichols KE, Crispino JD, Poncz M, White JG, Orkin SH, Maris JM, et al. Familial dyserythropoietic anaemia and thrombocytopenia due to an inherited mutation in GATA1. *Nature Genet*. 2000;24:266-270.
 31. Sankaran VG, Ulirsch JC, Tchaikovskii V, Ludwig LS, Wakabayashi A, Kadirvel S, et al. X-linked macrocytic dyserythropoietic anemia in females with an ALAS2 mutation. *J Clin Invest*. 2015;125:1665-1669.
 32. Ferguson PJ, Chen S, Tayeh MK, Ochoa L, Leal SM, Pelet A, et al. Homozygous mutations in LPIN2 are responsible for the syndrome of chronic recurrent multifocal osteomyelitis and congenital dyserythropoietic anaemia (Majeed syndrome). *J Med Genet*. 2005;42:551-557.
 33. Shteyer E, Saada A, Shaag A, Al-Hijawi FA, Kidess R, Revel-Vilk S, et al. Exocrine pancreatic insufficient, dyserythropoietic anemia, and calvarial hyperostosis are caused by a mutation in COX4I2 gene. *Am J Hum Genet*. 2009;84:412-417.
 34. Samkari A, Borzutzky A, Fermo E, Treaba DO, Dedeoglou F, Altura RA. A novel missense mutation in MVK associated with MK deficiency and dyserythropoietic anemia. *Pediatrics*. 2010;125:e964e968.
 35. Kautz L, Nemeth E. Molecular liaisons between erythropoiesis and iron metabolism. *Blood*. 2014;124:479-482.
 36. Tamy H, Shalev H, Perez-Avraham G, Zoldan M, Levi I, Swinkels DW, et al. Elevated growth differentiation factor 15 expression in patients with congenital dyserythropoietic anemia type I. *Blood*. 2008;112:5241-5244.
 37. Shalev H, Perez-Avraham G, Kapelushnik J, Levi I, Rabinovich A, Swinkels DW, et al. High levels of soluble serum hemojuvelin in patients with congenital dyserythropoietic anemia type I. *Eur J Haematol*. 2013;90:31-36.
 38. Russo R, Andolfo I, De Falco L, Manna F, Gambale A, Bruno M, et al. Erfe-encoding *FAM132B* in Congenital Dyserythropoietic Anemia Type II. *Blood*. 2015;126:535.
 39. Gambale A, Iolascon A, Andolfo I, Russo R. Diagnosis and management of congenital dyserythropoietic anemias. *Expert Rev Hematol*. 2016;9:283-296.
 40. Perrotta S, del Giudice EM, Carbone R, Servedio V, Schettini F Jr, Nobili B, et al. Gilbert's syndrome accounts for the phenotypic variability of congenital dyserythropoietic anemia type II (CDA-II). *J Pediatr*. 2000;136:556-559.
 41. Ayas M, Al-Jefri A, Baothman A, Al-Mahr M, Mustafa MM, Khalil S, et al. Transfusion-dependent congenital dyserythropoietic anemia type I successfully treated with allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2002;29:681-682.
 42. Lavabre-Bertrand T, Ramos J, Delfour C, Henry L, Guiraud I, Carillo S, et al. Long-term alpha interferon treatment is effective on anaemia and significantly reduces iron overload in congenital dyserythropoiesis type I. *Eur J Haematol*. 2004;73:380-383.
 43. Tamy H, Dgany O. Congenital dyserythropoietic anemia type I. *Gene Reviews*.[®] [Internet] 2009. Seattle (WA).

Σιδηροβλαστική Αναιμία

ΙΩΑΝΝΗΣ ΑΣΗΜΑΚΟΠΟΥΛΟΣ^{1,2}, ΜΑΡΙΑΝΝΑ ΠΟΛΙΤΟΥ²

¹Αιματολογική Κλινική, Γ.Ν. Λαϊκό, Αθήνα, ²N.Y. Αιμοδοσίας-Αιματολογικό Εργαστήριο, Νοσοκομείο Αρεταίειο, Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι σιδηροβλαστικές αναιμίες είναι μια ετερογενής ομάδα νοσημάτων με κοινό χαρακτηριστικό τις διαταραχές στη σύνθεση της αίμης και την παρουσία δακτυλιωτών σιδηροβλαστών (ανώμαλων νορμοβλαστών με εκτεταμένη συσώρευση σιδήρου στα μιτοχόνδρια) στο μυελό των οστών. Η αιτιολογία, η επιδημιολογία, και η θεραπεία αυτών των καταστάσεων διαφέρει, αλλά το μιτοχόνδριο φαίνεται να είναι το κοινό σημείο της παθοφυσιολογίας τους.

Μιτοχόνδρια και μεταβολισμός του σιδήρου

Κάθε ερυθροβλάστης περιέχει περίπου 200 μιτοχόνδρια τα οποία προέρχονται από το μητρικό ωκύτταρο (κληρονομούνται από τη μητέρα μέσω του ωαρίου). Κάθε μιτοχόνδριο περιέχει: α) 5-10 αντίγραφα κυκλικού γονιδιώματος μήκους 16.569 bp, το οποίο κωδικοποιεί 13 μόρια mRNA - τα οποία μεταφράζονται από τα μιτοχονδριακά ριβοσώματα αποδίδοντας συστατικά των ενζυμικών συμπλόκων της αναπνευστικής αλυσίδας, β) 22 μόρια tRNA (mt-tRNAs) και γ) 2 μόρια ριβοσωμικού RNA (mt-rRNAs). Με αυτόν τον τρόπο, το μιτοχονδριακό γονιδίωμα κωδικοποιεί παράγοντες απαραίτητους για την οξειδωτική φωσφορυλίωση, αλλά επίσης και τα συστατικά εκείνα που απαιτούνται για τη μετάφραση των μιτοχονδριακών mRNA σε πρωτεΐνες. Επιπλέον, το πυρηνικό γονιδίωμα κωδικοποιεί περισσότερα από 1000 γονίδια τα οποία μεταγράφονται στον πυρήνα, μεταφράζονται στο κυτταρόπλασμα, και μεταφέρονται ως πολυπεπτίδια στο μιτοχόνδριο¹. Στα πολυπεπτίδια αυτά περιλαμβάνονται όλα τα ένζυμα του κύκλου του

Krebs, 4 ένζυμα που συμμετέχουν στην βιοσύνθεση της αίμης, επιπρόσθετα συστατικά των ενζυμικών συμπλόκων της αναπνευστικής αλυσίδας, όλες οι πρωτεΐνες-μεταφορείς που απαιτούνται για τη μεταφορά των υποστρωμάτων και των προϊόντων μέσα και έξω από το μιτοχόνδριο, καθώς και όλες οι δομικές πρωτεΐνες των μιτοχονδριακών ριβοσωμάτων.

Τα μιτοχόνδρια επιτελούν πολλές λειτουργίες, ανάμεσα στις οποίες πολλές είναι σημαντικές για τον κυτταρικό μεταβολισμό του σιδήρου. Ιδιαίτερης σημασίας για τον ερυθροβλάστη, είναι ο ρόλος του μιτοχονδρίου στη βιοσύνθεση της αίμης (σιδηροπρωτοπορφυρίνη IX, iron-protoporphyrin IX, Fe-PPIX)^{2,3}. Η σύνθεση της αίμης ξεκινά στην μήτρα του μιτοχονδρίου με μια αντίδραση αποκαρβοξυλίωσης μεταξύ της γλυκίνης και του ηλεκτρολυλο-συνενζύμου A (coenzymeA, CoA), η οποία σχηματίζει το 5-αμινολεβουλικό οξύ (ALA). Στα πρόδρομα κύτταρα της ερυθράς σειράς, η αντίδραση αυτή καταλύεται από μια ειδική για την ερυθρά σειρά ισομορφή ενός ενζύμου εξαρτώμενου από τη φωσφορική πυριδοξάλη, τη συνθετάση 2 του αμινολεβουλικού οξέος (aminolevulinic acid synthetase 2, ALAS2). Έπειτα το ALA μεταφέρεται πιθανά μέσω της δράσης του διαλυτού μεταφορέα 25A38 (soluble carrier 25A38, SLC25A38) της οικογένειας των μιτοχονδριακών μεταφορέων⁴, στο κυτταρόπλασμα, όπου τα κυτταροπλασματικά ένζυμα καταλύουν τον σχηματισμό του πρόδρομου μορίου της πορφυρίνης, του κοπρωπορφυρινογόνου III, το οποίο μετατρέπεται περαιτέρω σε PPIX στο μιτοχονδριακό διαμεμβρανικό χώρο. Στη συνέχεια, η PPIX μεταφέρεται μέσω της εσωτερικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου στον πορφυρινικό δακτύλιο, όπου η φερροχηλατάση (ferrochelatase, FECH) καταλύει

τη δέσμευση του δισθενούς σιδήρου (Fe^{+2}), που εισέρχεται στο μιτοχόνδριο από την μιτοφερρίνη 1 (mitoferrin 1, MFRN1)⁵, και αποδίδει την αίμη. Τέλος, η αίμη μεταφέρεται στο κυτταρόπλασμα, όπου ενώνεται με τις αντίστοιχες αποπρωτεΐνες, όπως η α - και η β -σφαιρίνη, και σχηματίζει αιμοσφαιρίνη και άλλες ώριμες πρωτεΐνες που περιέχουν αίμη.

Τα μιτοχόνδρια έχουν επίσης σημαντικό ρόλο στην βιοσύνθεση των συμπλεγμάτων σιδήρου-θείου ($Fe-S$)^{6,7}, τα οποία αποτελούν τους ενζυματικούς συμπαραγόντες και τα δομικά συστατικά διάφορων μιτοχονδριακών πρωτεϊνών, όπως η μιτοχονδριακή ακονιτάση, η ηλεκτρική αφυδρογονάση (σύμπλοκο II της αναπνευστικής αλυσίδας), καθώς και διάφορα κυτταροπλασματικά ένζυμα, όπως η ρυθμιστική πρωτεΐνη δέσμευσης του σιδήρου 1 (iron regulatory binding protein 1, IRBP1). Η IRBP1 και το λειτουργικό της ομόλογο, η IRBP2, ανήκουν στους μετα-μεταγραφικούς ρυθμιστές διάφορων άλλων πρωτεϊνών που εμπλέκονται στον μεταβολισμό του σιδήρου, και περιλαμβάνουν την ALAS2, τον υποδοχέα της τρανσφερρίνης 1 (transferrin receptor 1, TFRC1), τον μεταφορέα δισθενών μετάλλων 1 (divalent metal transporter 1, DMT1 ή SLC11A2), και τις αποθηκευτικές πρωτεΐνες του σιδήρου, δηλαδή την L- και H-φερριτίνη (L- και H- ferritin, FTL και FTH, αντίστοιχα). Η ανεπάρκεια κυτταρικού σιδήρου οδηγεί σε μειωμένη συγκέντρωση του συμπλέγματος $Fe-S$, και επιφέρει τη σύνδεση των IRBP στα στοιχεία απόκρισης σιδήρου (iron-responsive elements, IREs), τα οποία είναι συγκεκριμένες νουκλεοτιδικές αλληλουχίες, παρούσες σε όλα τα προαναφερθέντα γονίδια Η IRBP1 και η IRBP2 σταθεροποιούν τα μόρια mRNA όταν τα IREs εδράζονται στην 3' αμετάφραστη περιοχή (3' untranslated area, 3' UTR) των γονιδίων, ενώ αναστέλλουν τη μετάφραση όταν τα IRE εδράζονται στο 5'UTR των μορίων mRNA. Η αλληλεξάρτηση ανάμεσα στη σύνθεση της αίμης και των συμπλεγμάτων $Fe-S$ στο μιτοχόνδριο με την κυτταροπλασματική έκφραση πρωτεϊνών, είναι ένας μηχανισμός μέσω του οποίου η διαταραχή της μεταβολικής οδού του Fe στο μιτοχόνδριο μπορεί να οδηγήσει στον σιδηροβλαστικό φαινότυπο.⁸

Συγγενείς σιδηροβλαστικές αναιμίες (ΣΣΑ, congenital sideroblastic anaemias, CSA)

Οι ΣΣΑ είναι ετερογενής ομάδα κληρονομικών αναιμιών με κοινό χαρακτηριστικό την παθολογική εναπόθεση σιδήρου στα μιτοχόνδρια των προγονικών κυττάρων της ερυθράς σειράς. Τα περισσότερα νοσήματα σχετίζονται κλινικά με δικτυοερυθροκυτταροπενία,

μη αποδοτική ερυθροποίηση, και δευτεροπαθή εναπόθεση σιδήρου. Αν και η αναιμία είναι το μοναδικό σύμπτωμα στην πλειονότητα των περιπτώσεων, μερικές ΣΣΑ σχετίζονται με άλλα κλινικά σύνδρομα, και πιο συγκεκριμένα με μεταβολικές και νευρομυϊκές διαταραχές οι οποίες κυριαρχούν στην κλινική εικόνα. Η αναιμία μπορεί να αναγνωρισθεί προγεννητικά, στον τοκετό, στην παιδική ή εφηβική ηλικία, ακόμα και σε μεγαλύτερες ηλικίες, αναλόγως με τη φυσική πορεία της νόσου, την υπεύθυνη μετάλλαξη, και άλλους παράγοντες. Κατά αντιστοιχία, μερικοί ασθενείς εμφανίζουν βαριά αναιμία και εξαρτώνται από τη μετάγγιση αίματος, ενώ άλλοι δεν είναι καθόλου αναιμικοί ή έχουν απλώς μια μικρή απόκλιση από το φυσιολογικό των ερυθροκυτταρικών τους δεικτών. Στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος μπορεί να υπάρχει μικροκυττάρωση, μακροκυττάρωση ή μεγαλοβλαστική εικόνα, είτε ακόμα και ερυθρά με φυσιολογική περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης. Έτσι, το κοινό στοιχείο όλων των ΣΣΑ είναι μόνο η παρουσία των δακτυλιωτών σιδηροβλαστών στο μυελό των οστών. Παρόλα αυτά, τα νοσήματα αυτά αν και διαχωρίζονται σε υποκατηγορίες με γνώμονα τη μοριακή βλάβη του κάθε κλινικού φαινοτύπου, μοιράζονται κοινούς παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς και συνεπώς παρόμοια κλινικά στοιχεία.^{9,10} Τα κλινικά και γενετικά χαρακτηριστικά των μοριακά καθορισμένων ΣΣΑ αναφέρονται στον πίνακα 1.

Φυλοσύνδετη σιδηροβλαστική αναιμία (X-linked sideroblastic anemia, XLSA)

Ο πιο κοινός τύπος ΣΣΑ, που αφορά περίπου 40% των περιπτώσεων, οφείλεται στην ανεπάρκεια της ALAS2, το γονίδιο της οποίας εδράζεται στο φυλετικό χρωμόσωμα X¹¹.

Περισσότερες από 60 διαφορετικές μεταλλάξεις του ALAS2 έχουν αναφερθεί σε ασθενείς με XLSA¹². Εκτός από κάποιες μη νοηματικές (nonsense) μεταλλάξεις σε κλινικά προσβεβλημένες γυναίκες φορείς, όλα τα αλληλόμορφα που σχετίζονται με τη νόσο προέρχονται από μονές νουκλεοτιδικές αντικαταστάσεις που οδηγούν σε παρερμηνεύσιμες (missense) μεταλλάξεις, υποδεικνύοντας πως κάποια υπολειπόμενη λειτουργικότητα της ALAS2 είναι απαραίτητη για την ζωή. Οι μεταλλάξεις αφορούν πιο συχνά, αλλά όχι αποκλειστικά, τα εξόνια 5 και 9, των οποίων τα προϊόντα είναι σημαντικά για την ενζυμική δραστηριότητα και την δομή του μορίου¹³.

Η φαινοτυπική έκφραση της νόσου είναι πολύ ετερογενής προφανώς γιατί οι διάφορες μεταλλάξεις έχουν διαφορετική επίδραση στην ενζυματική δράση

Πίνακας 1. Κλινικά και γενετικά χαρακτηριστικά των μοριακά καθορισμένων CSA

	Κληρονομικότητα	Χρωμόσωμα/ Γονίδιο	Υπερφόρτωση Fe	Μεταγγίσεις	Σχετιζόμενοι φαινότυποι
XLSA (OMIM 300751)	X-φυλοσύνδετη	Xp11.21/ALAS2	+ / ++	- / +	-
SLC25A38 (OMIM 205950)	Αυτοσωμική υπολειπόμενη	3p22.1	++	++	-
XLSA/A (OMIM 301310)	X-φυλοσύνδετη	Xq13/ABCB7	-	-	Αταξία
GLRX5	Αυτοσωμική υπολειπόμενη	14q32.2	++	+	-
PMPS (OMIM 557000)	Σποραδική, σπανιότερα από μητέρα	ΜιτοχονδριακόDNA	- / +	+	Ανεπάρκεια εξωκρινούς μοίρας παγκρέατος, πανκυτταροπενία, γαλακτική οξέωση, μυοπάθεια
MLASA1/ (OMIM600462)	Αυτοσωμική υπολειπόμενη	12q24.33/PUS1	- / +	+ / -	Μυοπάθεια, γαλακτική οξέωση, κρανιοπροσωπική δυσπλασία, νοητικές διαταραχές
TRMA (OMIM 249270)	Αυτοσωμική υπολειπόμενη	1q23.3/ SLC19A2	-	-	Σακχαρώδης διαβήτης, κώφωση

XLSA: X-συνδεόμενη σιδηροβλαστική αναιμία, SLC25A38: σιδηροβλαστική αναιμία λόγω μετάλλαξης στο SLC25A38, XLSA/A: X-συνδεόμενη σιδηροβλαστική αναιμία/αταξία, GLRX5: σιδηροβλαστική αναιμία λόγω μετάλλαξης στο GLRX5, PMPS: Σύνδρομο μυελού των οστών-παγκρέατος Pearson, MLASA/PUS1: Μιτοχονδριακή μυοπάθεια με γαλακτική οξέωση και δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες λόγω μεταλλάξεων στο γονίδιο της ψευδοουριδίνης συνθετάσης, MLASA/YARS2: Μιτοχονδριακή μυοπάθεια με γαλακτική οξέωση και δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες λόγω μεταλλάξεων στο γονίδιο της τυροσυλ-tRNA συνθετάσης, TRMA: μεγαλοβλαστική αναιμία αποκρινόμενη στη θειαμίνη λόγω μεταλλάξεων στο, +: παρόν χαρακτηριστικό, -: απόν χαρακτηριστικό

της ALAS2. Επιπλέον, ακόμα και στο ίδιο οικογενειακό δέντρο η διεισδυτικότητα είναι ποικίλη. Για παράδειγμα μπορεί να υπάρχουν ημιζυγωματικά άρρενα μέλη με μεταλλάξεις στα οποία η διάγνωση να διαφεύγει για μεγάλο χρονικό διάστημα επειδή δεν υπάρχει φαινοτυπική εκδήλωση¹⁴. Οι ημιζυγωματικοί άνδρες παρουσιάζονται τις πρώτες 2 δεκαετίες της ζωής με συμπτώματα αναιμίας ή αργότερα με εκδηλώσεις αναιμίας ή/και υπερφόρτωσης με σίδηρο. Η αναιμία είναι ήπια και σπανίως μεταγγισιοεξαρτώμενη, είναι τυπικά μικροκυτταρική (MCV 60-70 fl) και υπόχρωμη (MCH <27pg) και χαρακτηρίζεται από μεγάλο εύρος κατανομής ερυθρών (RDW >14.5%) Το επίχρισμα περιφερικού αίματος θα πρέπει να διαφοροδιαγνωσθεί από βαριά σιδηροπενική αναιμία, β- μεσογειακή αναιμία, ή άλλη αιμοσφαιρινοπάθεια, που συνήθως μπορούν να αποκλεισθούν με τη μέτρηση του σιδήρου, των δικτυοερυθροκυττάρων, και την ηλεκτροφόρηση της αιμοσφαιρίνης. Η Perl's χρώση του μυελού θα αναδείξει τους δακτυλιωτούς ερυθροβλάστες, όμως για να τεθεί η διάγνωση σήμερα είναι απαραίτητη και η ανίχνευση των μεταλλάξεων του ALAS2, που είναι πρωταρχικής σημασίας και για τη γενετική συμβουλευτική.

Η μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών παρουσιάζει υπερφόρτωση με σίδηρο ανεξάρτητα από την ανάγκη για μετάγγιση. Συνήθως η υπερφόρτωση εξαρτάται από την ηλικία του ασθενούς και το βαθμό της μη αποδοτικής ερυθροποίησης¹⁵. Η μη αποδοτική ερυθροποίηση οδηγεί τόσο σε αυξημένη απορρόφηση σιδήρου όσο και σε απελευθέρωση σιδήρου από το δικτυοενδοθηλιακό σύστημα, μάλλον μέσω της αναστολής της σύνθεσης εψιδίνης¹⁶. Αν αυτό διαμεσολαβείται από την ερυθροφερρόνη ή και από άλλους παράγοντες παραμένει να διευκρινιστεί¹⁷. Οι επιπλοκές της υπερφόρτωσης με σίδηρο είναι η τυπική πρώτη εκδήλωση σε άνδρες μέσης ηλικίας με ήπια αναιμία.. Αυτοί οι ασθενείς έχουν οριακά χαμηλή αιμοσφαιρίνη και μόνο ο χαμηλός MCV μπορεί να δημιουργήσει υποψία για τη διάγνωση. Η συν-κληρονόμηση της μετάλλαξης C282Y του γονιδίου HFE (αρκετά συχνής στους Καυκάσιους) αποτελεί έναν πρόσθετο παράγοντα κινδύνου για την επιδείνωση της παρεγχυματικής υπερφόρτωσης με σίδηρο¹⁶.

Η XLSA μπορεί να εμφανιστεί με αναιμία και σε μεγαλύτερη ηλικία. Σε αρκετές περιπτώσεις αυτό απλώς αντανακλά το γεγονός ότι η αναιμία είναι

τόσο ήπια που απλώς διαγιγνώσκεται σε μεγαλύτερη ηλικία¹⁸. Όμως έχει επιπλέον περιγραφεί σε ετερόζυγες γυναίκες με XLSA που εκλεκτικά εκφράζουν το μεταλλαγμένο αλληλίο στα ερυθροειδικά κύτταρα. Οι περισσότερες ετερόζυγες γυναίκες έχουν μόνο ήπιες ερυθροκυτταρικές ανωμαλίες, όπως αυξημένο RDW λόγω του διμορφου πληθυσμού. Όμως σε μεγαλύτερη ηλικία μπορεί να παρουσιαστεί ανισόρροπη αδρανοποίηση του X χρωμοσώματος (lyonization) οδηγώντας σε εκλεκτική έκφραση του μεταλλαγμένου αλληλίου. Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες^{19,20}, έχουν δείξει ότι οι ηλικιωμένοι μπορεί να αναπτύσσουν σχετικά συχνά κάποιου είδους κλωνική αιμοποίηση. Έτσι σε μια γυναίκα ετερόζυγη για τις μεταλλάξεις του ALAS2 η ανάπτυξη κλωνικής αιμοποίησης θα μπορούσε να οδηγήσει με 50% πιθανότητα σε κλωνική επέκταση των ερυθροειδικών κυττάρων που φέρουν το μεταλλαγμένο ALAS2 αλληλίο και στην εμφάνιση αναιμίας που να μιμείται μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο.²¹

Αυτοσωματική υπολειπόμενη XLSA που οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου SLC25A38

Η αναιμία είναι σοβαρή μικροκυτταρική, υπόχρωμη και σχεδόν όλοι οι ασθενείς που έχουν αναφερθεί μέχρι σήμερα στη βιβλιογραφία έχουν ανάγκη για τακτικές μεταγγίσεις. Η κλινική πορεία αυτού του υπότυπου είναι παρόμοια με αυτή της μείζονος μεσογειακής αναιμίας (MA) και η συντηρητική θεραπεία περιλαμβάνει μεταγγίσεις και αποσιδήρωση. Όπως και στη MA η μεταμόσχευση του μυελού των οστών αποτελεί τη μόνη θεραπευτική επιλογή ουσιαστικής ίασης και έτσι θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη σε νέους ασθενείς με τη νόσο.^{4,22,23}

Επίκτητες σιδηροβλαστικές αναιμίες (acquired sideroblastic anaemias, ASA)

Οι **επίκτητες σιδηροβλαστικές αναιμίες** είναι πιο συχνές από τις κληρονομικές μορφές. Εκδηλώνονται σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας στα πλαίσια κάποιου μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου ή οφείλονται σε έκθεση σε τοξίνες ή ανεπάρκεια διατροφικών παραγόντων.

Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα

Η πιο συχνή επίκτητη σιδηροβλαστική αναιμία είναι η ανθεκτική αναιμία με δακτυλιωτούς σιδηροβλάστες (RARS, refractory anemia with ringed sideroblasts) Ποικιλίες αυτής της κατάστασης περιλαμβάνουν την ανθεκτική κυτταροπενία με δυσπλασία σε όλες τις

σειρές και δακτυλιωτούς ερυθροβλάστες RCMD-RS (refractory cytopenia with multilineage dysplasia and ring sideroblasts) και την ανθεκτική αναιμία με δακτυλιωτούς σιδηροβλάστες που σχετίζεται με θρομβοκυττάρωση (RARS-T). Η RARS χαρακτηρίζεται από αναιμία, βλάστες <5% και >15% δακτυλιωτούς σιδηροβλάστες στο μυελό των οστών. Η αναιμία είναι συνήθως μακροκυτταρική (MCV 100fl) ενώ τα λευκά και αιμοπετάλια είναι φυσιολογικά²⁴. Οι περισσότεροι ασθενείς έχουν κάποια ένδειξη υπερφόρτωσης με σίδηρο, όπως αυξημένο σίδηρο ορού, κορεσμό τρανσφερίνης ή φερριτίνη ορού και ανεξήγητα χαμηλά επίπεδα εψιδίνης, παρόλα αυτά η παρεγχυματική υπερφόρτωση με σίδηρο αποτελεί ένα κλινικό πρόβλημα μόνο σε ασθενείς που είναι μεταγγισιοεξαρτώμενοι. Η αναιμία είναι ήπια και σταθερή για πολλά χρόνια αλλά μπορεί να επιδεινωθεί με το πέρασμα του χρόνου και να οδηγήσει σε εξάρτηση από μεταγγίσεις. Ένα μικρό ποσοστό ασθενών μπορεί να εξελιχθεί σε OMA.

Η RCMD-RS χαρακτηρίζεται από δυσπλασία σε περισσότερα από 10% των κυττάρων σε >2 σειρές στο μυελό των οστών. Σε αντίθεση με τη RARS υπάρχει μεγαλύτερη πιθανότητα μυελικής ανεπάρκειας ή εξέλιξης σε OMA. Η RARS-T συνδυάζει τα χαρακτηριστικά της RARS με θρομβοκυττάρωση (AMΠ >450.000) και την παρουσία μεγάλων και άτυπων μεγακαρυοκυττάρων στο μυελό, παρόμοιων με αυτά που παρατηρούνται στα μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα.^{24,25}

Η μοριακή βάση της RARS αποσαφηνίστηκε το 2011 όταν ανακαλύφθηκαν σωματικές σημειακές μεταλλάξεις στα εξώνια του γονιδίου SF3B1 (splicing factor 3b subunit 1) σε 6/8 ασθενείς με RARS²⁶. Όλες οι μεταλλάξεις συγκεντρώνονται στα εξώνια 12-16 του γονιδίου και φαίνονται να επιφέρουν ετερόζυγες αμινοξικές αντικαταστάσεις, με την SF3B1 (K700E) να είναι η πιο συχνή (ανιχνεύθηκε στο 50% των ασθενών).²⁷

Σε ασθενείς με διάφορους υπότυπους ΜΔΣ με τη μέθοδο του whole exome sequencing ανιχνεύθηκαν σωματικές μεταλλάξεις και σε άλλα γονίδια που συμμετέχουν στο μάτισμα του RNA [π.χ. SRSF2 (serine and arginine rich splicing factor2), U2AF1 (U2 small nuclear RNA auxiliary factor1) και ZRSR2 (zinc finger CCCH type RNA binding motif and serine arginine rich2)]. Όμως οι μεταλλάξεις του SF3B1 ανιχνεύονταν με μεγαλύτερη συχνότητα ειδικά σε ασθενείς με δακτυλιωτούς σιδηροβλάστες²⁸⁻³⁰. Έτσι φαίνεται ότι το SF3B1 είναι το πρώτο γονίδιο που σχετίζεται στενά με συγκεκριμένη μορφολογική ανωμαλία. Οι κλινικές οντότητες RARS, RCMD-RS και RARS-T μπορεί ως εκ τούτου να έχουν ως κοινό τις μεταλλάξεις του SF3B1 αλλά να διαφέρουν στις υποκλωνικές ή συ-

νυπάρχουσες μεταλλάξεις (π.χ. η RARS-T μπορεί να έχει συνυπάρχουσες μεταλλάξεις στα γονίδια Jak2, MPL, CALR σε κάποιους υποκλώνους τα οποία προσδίδουν τα χαρακτηριστικά του μυελοϋπερπλαστικού)²⁵.

Ακόμα δεν είναι, δεν είναι ξεκάθαρο, πως οι μεταλλάξεις του SF3B1 προκαλούν κλωνικό πολλαπλασιασμό των αιμοποιητικών αρχέγονων κυττάρων, μυελοδυσπλασία και μη αποδοτική ερυθροποίηση. Ένας πιθανός μηχανισμός είναι ότι οι μεταλλάξεις του SF3B1 μπορεί να οδηγήσουν σε επαναλαμβανόμενα λανθασμένο μάτισμα μορίων -ρυθμιστών του αιμοποιητικού συστήματος όπως π.χ. η μεθυλτρανσφεράση των ιστονών (EZH2)³⁰. Επιπλέον έχει φανεί ότι στα CD 34 + κύτταρα ασθενών με μυελοδυσπλαστικά, που φέρουν μεταλλάξεις στο SF3B1, παρατηρούνται εκατοντάδες γεγονότα λανθασμένου ματίσματος σε πολλά γονίδια ταυτόχρονα που οδηγούν σε καταστροφικές συνέπειες σε πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη σύνθεση της αίμης, στον κυτταρικό κύκλο και στην επιδιόρθωση του DNA οδηγώντας σε ελαττωμένη έκφραση τους¹⁰.

Ο μοριακός μηχανισμός που οδηγεί στην υπερφόρτωση με σίδηρο στα μιτοχόνδρια των άωρων ερυθροκυττάρων των ασθενών με RARS δεν είναι ακόμα ξεκάθαρος αν και έχει περιγραφεί ελαττωμένη έκφραση του μορίου ABCB7 (ο «εξαγωγέας σιδήρου από το μιτοχόνδριο στο κυτταρόπλασμα»)³¹ λόγω ανώμαλου ματίσματος του RNA του ABCB7 που οδηγεί σε πρόωρο κωδικόνιο τερματισμού³².

Τέλος ιδιαίτερα ενδιαφέρον είναι το συμπέρασμα μελέτης ότι η παρουσία των μεταλλάξεων του SF3B1 φαίνεται να καθορίζει έναν διαφορετικό τύπο μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου που χαρακτηρίζεται από σημαντικά καλύτερη επιβίωση και μικρότερη πιθανότητα εξέλιξης της νόσου³³.

Φάρμακα και τοξικοί παράγοντες

Τα φάρμακα και οι τοξικοί παράγοντες είναι σημαντικές αιτίες σιδηροβλαστικής αναιμίας. Στον πίνακα 2 παρουσιάζονται ορισμένοι γνωστοί παράγοντες που ενοχοποιούνται για την εμφάνιση σιδηροβλαστικής αναιμίας. Ο υπεύθυνος μηχανισμός φαίνεται πως είναι η αναστολή του βιοσυνθετικού μονοπατιού της αίμης και συνήθως η αναιμία διορθώνεται με την διακοπή του ενοχοποιούμενου παράγοντα. Η αιθανόλη είναι ο πιο συχνός παράγοντας που σχετίζεται με την εκδήλωση σιδηροβλαστικής αναιμίας^{34,35}, πιθανώς μέσω δύο μηχανισμών: άμεση δράση ως ανταγωνιστής της φωσφορικής πυριδοξάλης και/ή σχετιζόμενη διατροφική έλλειψη αυτού του συστατικού³⁶. Οι μορφολογικές αλλοιώσεις του μυελού των οστών που σχετίζονται

Πίνακας 2. Φάρμακα και τοξικοί παράγοντες που προκαλούν ASA.

Φάρμακα	Αιθανόλη Ισονιαζίδη Κυκλοσερίνη Χλωραμφενικόλη Βουσουλφάνη
Χηλικοί παράγοντες του Χαλκού	Πενικιλλαμίνη διϋδροχλωρικό τετραμινο-τριαιθυλένιο
Βαρέα μέταλλα	Μόλυβδος Ψευδάργυρος

με την τοξικότητα στην αιθανόλη περιλαμβάνουν τα κενोटόπια στους νορμοβλάστες σε συνδυασμό με τους σιδηροβλάστες. Ο σχηματισμός των κενोटόπιων είναι πιθανόν αποτέλεσμα κυτταρικής βλάβης ή stress.

Η ισονιαζίδη συχνά προκαλεί σιδηροβλαστική αναιμία³⁷, γι'αυτό και η προφύλαξη με πυριδοξίνη είναι μέρος των θεραπευτικών σχημάτων που περιλαμβάνουν ισονιαζίδη. Το φάρμακο αναστέλλει χαρακτηριστικά την δραστηριότητα της ALAS²¹. Η θνητότητα της επαγόμενης από την ισονιαζίδη σιδηροβλαστικής αναιμίας ήταν σημαντική προτού οι ερευνητές κατανοήσουν την αιτιακή αυτή συσχέτιση.

Η χλωραμφενικόλη αναστέλλει τη μετάφραση του mRNA από τα 70S ριβοσώματα των προκαρυωτικών οργανισμών. Λόγω της προέλευσής τους από τους προκαρυωτικούς οργανισμούς, τα μιτοχονδριακά ριβοσώματα είναι όμοια με αυτά των βακτηρίων, κάτι που ερμηνεύει την αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης από την χλωραμφενικόλη. Έτσι δεν μπορούν να μεταφραστούν ορισμένες πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από το μιτοχονδριακό γονιδίωμα των ομόλογων ριβοσωμάτων. Η επαγόμενη από την χλωραμφενικόλη σιδηροβλαστική αναιμία θεωρείται ως η παθοφυσιολογική συνέπεια αυτής της αναστολής³⁸.

Η δηλητηρίαση με μόλυβδο είναι μια αιτία σιδηροβλαστικής αναιμίας που συχνά διαφεύγει της διάγνωσης³⁹. Η έλλειψη σιδήρου ευοδώνει την απορρόφηση μολύβδου, κάτι που σημαίνει πως οι δύο αυτές καταστάσεις μπορεί να συνυπάρχουν⁴⁰. Τα παιδιά με δηλητηρίαση από μόλυβδο αναπτύσσουν πιο συχνά σιδηροβλαστική αναιμία σε σχέση με τους ενήλικες³, χωρίς να είναι γνωστή η αιτιολογία αυτής της διαφοράς. Η μείωση της χρήσης χρωμάτων-βαφών που περιέχουν μόλυβδο έχει μειώσει, αλλά όχι εξαφανίσει τον κίνδυνο της μολυβδίασης στα παιδιά. Το έδαφος σε κάποιες περιοχές του κόσμου έχει ενδογενώς αυξημένη περιεκτικότητα σε μόλυβδο, και

το στοιχείο αυτό απαντάται έτσι σε αυξημένα επίπεδα στις τροφές φυτικής προέλευσης. Πολλές χώρες έχουν απαγορεύσει τη χρήση βενζίνης με μόλυβδο. Δυστυχώς, η απαγόρευση αυτή δεν είναι καθολική, ενώ οι εκπομπές από την καύση της εναποθέτουν μόλυβδο στο νερό και το έδαφος.

Περιστασιακά, τοξικοί παράγοντες που προσβάλλουν τον μυελό των οστών μπορεί να προκαλέσουν σιδηροβλαστική αναιμία. Έτσι, έχει αναφερθεί η εμφάνιση σιδηροβλαστικής αναιμίας σε ασθενή με χρόνια μυελογενή λευχαιμία μετά από θεραπεία με βουσουλφάνη⁴¹. Μάλιστα, η κατάσταση αυτή υποστράφηκε μετά τη διακοπή της θεραπείας με βουσουλφάνη.

Τέλος, η υπερδοσολογία χηλικών παραγόντων, όπως η πενικιλλαμίνη ή το διϋδροχλωρικό τετραμινωτρίαυθενίο (Trientene ή ΤΤΗ) που χρησιμοποιούνται στην νόσο Wilson συσχετίζονται με εμφάνιση σιδηροβλαστικής αναιμίας. Η εκσεσημασμένη χηλίωση μπορεί να οδηγήσει σε ένδεια χαλκού. Ο χαλκός καταλύει το τελικό στάδιο της βιοσύνθεσης της αίμης, την εισαγωγή του σιδήρου στην πρωτοπορφυρίνη ΙΧ και η έλλειψή του μπορεί να οδηγήσει σε σιδηροβλαστική αναιμία. Αντίστοιχα η δηλητηρίαση με ψευδάργυρο (μετά από υπερδοσολογία συμπληρωμάτων βιταμινών) μπορεί να οδηγήσει σε σιδηροβλαστική αναιμία,⁴² λόγω μεταβολικών διαταραχών που προκαλεί όπως τα χαμηλά επίπεδα χαλκού στον ορό. Η κατάσταση αυτή υποστρέφει μετά τη διακοπή της έκθεσης στον ψευδάργυρο.

Διαιτητικοί παράγοντες

Τα συστατικά που εμπλέκονται στην βιοσύνθεση της αίμης περιλαμβάνουν ανάμεσα σε άλλα την πυριδοξίνη και τον χαλκό. Ο ρόλος της φωσφορικής πυριδοξάλης, ενός μεταβολίτη της πυριδοξίνης, έχει ήδη σημειωθεί. Η ανεπάρκεια της πυριδοξίνης, συνήθως οφειλόμενη στην κακή σίτιση, περιστασιακά προκαλεί σιδηροβλαστική αναιμία. Ωστόσο, άλλες κλινικές εκδηλώσεις, όπως η περιφερική νευροπάθεια και η δερματίτιδα κυριαρχούν στην κλινική εικόνα.

Ο ρόλος του χαλκού στον ανθρώπινο μεταβολισμό του σιδήρου είναι εξαιρετικά πολύπλοκος⁴³. Ο χαλκός ευοδώνει την εντερική απορρόφηση του σιδήρου, ρυθμίζει την δικτυοενδοθηλιακή δραστηριότητα, συμμετέχει στην κυτταρική πρόσληψη σιδήρου από την τρανσφερρίνη και βοηθάει στην ενσωμάτωση του σιδήρου στην αίμη. Η ανεπάρκεια χαλκού ανεξαρτήτου αιτίας (κακή διατροφή, παρατεταμένη παρεντερική διατροφή, χειρουργείο στομάχου, προωρότητα, χορήγηση ψευδαργύρου, εκτεταμένη χηλίωση) μπορεί να οδηγήσει σε επίκτητη σιδηροβλαστική αναιμία³⁰.

Θεραπεία

Σε κάθε περιστατικό σιδηροβλαστικής αναιμίας θα πρέπει να αποκλειστεί η ύπαρξη αναστρέψιμης αιτίας συμπεριλαμβανομένου του αλκοόλ ή της τοξικότητας άλλου φαρμάκου, καθώς επίσης και η έκθεση σε τοξικούς παράγοντες. Η θεραπεία της σιδηροβλαστικής αναιμίας είναι υποστηρικτική, στηριζόμενη κυρίως στις μεταγγίσεις αίματος. Αρχικά, η δοκιμή χορήγησης πυριδοξίνης σε φαρμακολογικές δόσεις είναι θεμιτή, καθώς έχει ελάχιστες ανεπιθύμητες ενέργειες και σημαντικό όφελος στις καταστάσεις που βοηθά⁴⁴. Πλήρης ανταπόκριση στη πυριδοξίνη μπορεί να παρουσιασθεί σε περιπτώσεις ΣΑ που είναι αποτέλεσμα κατάχρησης αιθανόλης ή λήψης ανταγωνιστών πυριδοξίνης. Η διακοπή του υπεύθυνου παράγοντα επιταχύνει την ανάρρωση. Ορισμένοι ασθενείς με ΧLSA μπορεί να ανταποκριθούν στην πυριδοξίνη. Στις υπόλοιπες περιπτώσεις η ανταπόκριση είναι σπάνια. Η αρχική δόση της πυριδοξίνης θα πρέπει να είναι 100-200 mg καθημερινά από το στόμα με σταδιακή αύξηση της δόσης μέχρι τα 500mg. Εφόσον υπάρχει ανταπόκριση στην πυριδοξίνη, θα πρέπει να χορηγηθεί και θεραπεία υποκατάστασης με φυλλικό οξύ. Σε αυτές τις περιπτώσεις, δύο βδομάδες μετά την έναρξη της αγωγής παρατηρείται μια δικτυοερυθροκυτταρική κρίση, η οποία ακολουθείται από μια σταδιακή αύξηση των επιπέδων αιμοσφαιρίνης μέσα στους επόμενους μήνες. Η δόση συντήρησης της πυριδοξίνης καθορίζεται με κριτήριο την παραμονή σταθερών επιπέδων αιμοσφαιρίνης. Εκτός από περιπτώσεις όπου υπάρχει έκθεση σε τοξικό παράγοντα, η διάρκεια της θεραπείας με πυριδοξίνη είναι επ' αόριστον. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες είναι σπάνιες με δόσεις μικρότερες των 500mg. Ορισμένοι ασθενείς έχουν αναπτύξει με δόσεις μεγαλύτερες των 1000 mg περιφερική νευροπάθεια, η οποία όμως είναι αναστρέψιμη. Σε ασθενείς που παρουσιάζουν ανταπόκριση, η αναιμία μπορεί να υποτροπιάσει μετά την διακοπή της λήψης πυριδοξίνης.¹⁰

Πολλοί ασθενείς με σιδηροβλαστική αναιμία υποβάλλονται σε χρόνιες μεταγγίσεις για να διατηρηθούν τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης σε ανεκτές τιμές. Ωστόσο, κυρίως τα συμπτώματα του ασθενούς και λιγότερο η απόλυτη τιμή της αιμοσφαιρίνης ή του αιματοκρίτη θα πρέπει να αποτελούν οδηγό για την ύπαρξη ανάγκης για μετάγγιση. Αυτή η τακτική μειώνει και την συχνότητα εμφάνισης ανεπιθύμητων επιπλοκών που σχετίζονται με τη μετάγγιση (μετάδοση λοιμογόνων παραγόντων, άλλο-ανοσοποίηση και δευτεροπαθής αιμοχρωμάτωση).

Ακόμα και σε ασθενείς που δεν έχουν σημαντικό

ιστορικό μεταγγίσεων, προτείνεται από πολλούς κλινικούς ο τακτικός έλεγχος των επιπέδων φερριτίνης και του κορεσμού τρανσφερρίνης. Η αποσιδήρωση με δεσφεριοξαμίνη είναι η θεραπεία εκλογής για την δευτεροπαθή αιμοχρωμάτωση λόγω των συχνών μεταγγίσεων. Περιστασιακά, οι ασθενείς με μέτρια αναιμία (π.χ. αιμοσφαιρίνη της τάξης των 10gr/dl) που δεν είναι εξαρτώμενοι από τις μεταγγίσεις μπορούν να ανεχτούν μικρού όγκου αφαιμάξεις (250-350 ml ή 4-5ml/kgr βάρους σώματος) κάθε 2 εβδομάδες για την απομάκρυνση του σιδήρου χωρίς σημαντική ελάττωση της αιμοσφαιρίνης εφόσον υπάρχει υπερφόρτωση με σίδηρο.^{45,46}

Υπάρχουν αναφορές σε μεμονωμένες περιπτώσεις και μικρές σειρές ασθενών για την θέση της αλλογενούς μεταμόσχευσης αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων στην ΣΣΑ^{47,48} με στόχο βέβαια την πλήρη ίαση, όπως έχει γίνει σε ασθενείς με β-MA. Για την απόφαση αυτή θα πρέπει να ληφθούν υπόψη τα πιθανά οφέλη έναντι των δυνητικών επιπλοκών μιας τέτοιας διαδικασίας. Στις οικογένειες με σοβαρές μορφές ΣΣΑ θα πρέπει να τους παρέχεται γενετική συμβουλευτική.

Ασθενείς με RARS ή RCMD-RS χωρίς δυσμενή καρυότυπο και ασυμπτωματικές κυτταροπενίες δεν χρειάζονται θεραπεία και πρέπει να παρακολουθούνται τακτικά. Αν αναπτυχθεί μέτρια έως σοβαρή αναιμία οι ασθενείς μπορεί να βοηθηθούν από τη θεραπεία με ανασυνδυασμένη ερυθροποιητίνη μόνη ή σε συνδυασμό με G-CSF.⁴⁹ Η έναρξη αναγκών τακτικής μετάγγισης ερυθρών συνήθως σχετίζεται με επιδείνωση της επιβίωσης. Η αποσιδήρωση πρέπει να λαμβάνεται υπόψη γιατί λόγω του καλού προσδόκιμου επιβίωσης οι ασθενείς μπορεί να αναπτύξουν υπερφόρτωση με σίδηρο. Τελευταία έχει προταθεί ότι η χορήγηση φαρμακευτικών ουσιών (ACE536, ACE11) που αναστέλλουν μέλη της οικογένειας των TGF-β και GDF11 θα μπορούσαν να διορθώσουν τη μη αποδοτική ερυθροποίηση σε ασθενείς με RARS αλλά βέβαια χρειάζονται και κλινικές μελέτες φάσεως 3 για να επιβεβαιώσουν αυτήν την αποτελεσματικότητα.^{50,51}

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Pagliarini DJ, Calvo SE, Chang B, Sheth SA, Vafai SB, Ong SE, et al. A mitochondrial protein compendium elucidates complex I disease biology. *Cell*. 2008; 134:112-123.
- Ponka P. Cell biology of heme. *Am J Med Sci*. 1999; 318:241-256.
- Ponka P. Tissue-specific regulation of iron metabolism and heme synthesis: distinct control mechanisms in erythroid cells. *Blood*. 1997;89:1-25.
- Guernsey DL, Jiang H, Campagna DR, Evans SC, Ferguson M, Kellogg MD, et al. Mutations in mitochondrial carrier family gene SLC25A38 cause nonsyndromic autosomal recessive congenital sideroblastic anemia. *Nat Genet*. 2009;41:651-653.
- Shaw GC, Cope JJ, Li L, Corson K, Hersey C, Ackermann GE, Gwynn B, et al. Mitoferrin is essential for erythroid iron assimilation. *Nature*. 2006;440:96-100.
- Lill R. Function and biogenesis of iron-sulphur proteins. *Nature*. 2009;460:831-838.
- Ye H, Rouault TA. Erythropoiesis and iron sulfur cluster biogenesis. *Adv Hematol*. 2010;2010.
- Rouault TA. The role of iron regulatory proteins in mammalian iron homeostasis and disease. *Nat Chem Biol*. 2006; 2:406-414.
- Fleming MD. Congenital sideroblastic anemias: iron and heme lost in mitochondrial translation. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2011:525-531.
- Cazzola M, Malcovati L. Diagnosis and treatment of sideroblastic anemias: from defective heme synthesis to abnormal RNA splicing. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2015;19-25.
- Bergmann AK, Campagna DR, McLoughlin EM, Agarwal S, Fleming MD, Bottomley SS, Neufeld EJ. Systematic molecular genetic analysis of congenital sideroblastic anemia: evidence for genetic heterogeneity and identification of novel mutations. *Pediatr Blood Cancer*. 2010; 54:273-278.
- Ducamp S, Kannengiesser C, Touati M, Garcon L, Guerci-Bresler A, Guichard JF, et al. Sideroblastic anemia: molecular analysis of the ALAS2 gene in a series of 29 probands and functional studies of 10 missense mutations. *Hum Mutat*. 2011;32:590-597.
- Astner I, Schulze JO, van den Heuvel J, Jahn D, Schubert WD, Heinz DW. Crystal structure of 5-aminolevulinic synthase, the first enzyme of heme biosynthesis, and its link to XLSA in humans. *EMBO J*. 2005;24:3166-3177.
- Cazzola M, May A, Bergamaschi G, Cerani P, Ferrillo S, Bishop DF. Absent phenotypic expression of X-linked sideroblastic anemia in one of 2 brothers with a novel ALAS2 mutation. *Blood*. 2002;100:4236-4238.
- Cazzola M, Barosi G, Bergamaschi G, et al. Iron loading in congenital dyserythropoietic anaemias and congenital sideroblastic anaemias. *Br J Haematol*. 1983; 54:649-654.
- Kautz L, Nemeth E. Molecular liaisons between erythropoiesis and iron metabolism. *Blood*. 2014;124:479-482.
- Kautz L, Jung G, Valore EV, Rivella S, Nemeth E, Gan Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *NatGenet*. 2014;46:678-684.
- Cotter PD, May A, Fitzsimons EJ, et al. Late-onset X-linked sideroblastic anemia. Missense mutations in the erythroid delta-aminolevulinic synthase (ALAS2) gene in two pyridoxine-responsive patients initially diagnosed with acquired refractory anemia and ringed sideroblasts. *J Clin Invest*. 1995;96:2090-2096.
- Cazzola M, May A, Bergamaschi G, Cerani P, Rosti V, Bishop DF. Familial-skewed X-chromosome inactivation

- as a predisposing factor for late-onset X-linked sideroblastic anemia in carrier females. *Blood*. 2000;96:4363-4365.
20. Genovese G, Kahler AK, Handsaker RE, et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *N Engl J Med*. 2014; 371:2477-2487.
 21. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med*. 2014; 371:2488-2498.
 22. Bergmann AK, Campagna DR, McLoughlin EM, et al. Systematic molecular genetic analysis of congenital sideroblastic anemia: evidence for genetic heterogeneity and identification of novel mutations. *Pediatric Blood Cancer*. 2010;54:273-278.
 23. Kannengiesser C, Sanchez M, Sweeney M, et al. Missense SLC25A38 variations play an important role in autosomal recessive inherited sideroblastic anemia. *Haematologica*. 2011;96:808-813.
 24. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2008.
 25. Cazzola M, Malcovati L, Invernizzi R. Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2011:264-272.
 26. Papaemmanuil E, Cazzola M, Boultonwood J, et al. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med*. 2011;365:1384-1395.
 27. Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, et al. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature*. 2011;478:64-69.
 28. Malcovati L, Papaemmanuil E, Bowen DT, et al. Clinical significance of SF3B1 mutations in myelodysplastic syndromes and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2011;118:6239-6246.
 29. Cazzola M, Rossi M, Malcovati L. Biologic and clinical significance of somatic mutations of SF3B1 in myeloid and lymphoid neoplasms. *Blood*. 2013;121:260-269.
 30. Kim E, Ilagan JO, Liang Y, et al. SRSF2 Mutations contribute to myelodysplasia by mutant-specific effects on exon recognition. *Cancer Cell*. 2015;27:617-630.
 31. Boultonwood J, Pellagatti A, Nikpour M, et al. The role of the iron transporter ABCB7 in refractory anemia with ring sideroblasts. *PLoS One*. 2008;3:e1970.
 32. Dolatshad H, Pellagatti A, Liberante FG, Llorian M, Repapi E, Steeples V, et al. Cryptic splicing events in the iron transporter ABCB7 and other key target genes in SF3B1-mutant myelodysplastic syndromes *Leukemia*. 2016 Jun 17. doi: 10.1038/leu.2016.149.
 33. Malcovati L, Karimi M, Papaemmanuil E, et al. SF3B1 mutation identifies a distinct subset of myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts. *Blood*. 2015;126:233-241.
 34. Larkin EC, Watson-Williams EJ. Alcohol and the blood. *Med Clin North Am*. 1984;68:105-120.
 35. Lindenbaum J, Roman MJ. Nutritional anemia in alcoholism. *Am J Clin Nutr*. 1980;33:2727-2735.
 36. McColl KE, Thompson GG, Moore MR, Goldberg A. Acute ethanol ingestion and haem biosynthesis in healthy subjects. *Eur J Clin Invest*. 1980;10:107-112.
 37. Sharp RA, Lowe JG, Johnston RN. Anti-tuberculous drugs and sideroblastic anemia. *Br J Clin Pract*. 1990; 44:706-707.
 38. Rosenberg A, Marcus O. Effect of chloramphenicol on reticulocyte delta-aminolaevulinic acid synthetase in rabbits. *Br J Haematol*. 1974;26:79-83.
 39. Goyer RA. Lead toxicity: current concerns. *Environ Health Perspect*. 1993;100:177-187.
 40. Gerson B. Lead. *Clin Lab Med*. 1990;10:441-457.
 41. Balestra DJ. Adult chronic lead intoxication. A clinical review. *Arch Intern Med*. 1991;151:1718-1720.
 42. Porea TJ, Belmont JW, Mahoney DH, Jr. Zinc-induced anemia and neutropenia in an adolescent. *J Pediatr*. 2000;136:688-690.
 43. Danks DM. Copper deficiency in humans. *Annu Rev Nutr*. 1988;8:235-57.
 44. Murakami R, Takumi T, Gouji J, Nakamura H, Kondou M. Sideroblastic anemia showing unique response to pyridoxine. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1991;13:345-350.
 45. French TJ, Jacobs P. Sideroblastic anaemia associated with iron overload treated by repeated phlebotomy. *S Afr Med J*. 1976;50:594-596.
 46. Hines JD. Effect of pyridoxine plus chronic phlebotomy on the function and morphology of bone marrow and liver in pyridoxine-responsive sideroblastic anemia. *Semin Hematol*. 1976;13:133-140.
 47. Gonzalez MI, Caballero D, Vazquez L, Canizo C, Hernandez R, Lopez C, et al. Allogeneic peripheral stem cell transplantation in a case of hereditary sideroblastic anaemia. *Br J Haematol*. 2000;109:658-660.
 48. Urban C, Binder B, Hauer C, Lanzer G. Congenital sideroblastic anemia successfully treated by allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1992;10:373-375.
 49. Hellstrom-Lindberg E, Ahlgren T, Beguin Y, et al. Treatment of anemia in myelodysplastic syndromes with granulocyte colony-stimulating factor plus erythropoietin: results from a randomized phase II study and long-term follow-up of 71 patients. *Blood*. 1998;92:68-75.
 50. Platzbecker U, Germing U, Giagounidis A, et al. ACE-536 increases hemoglobin and reduces transfusion burden in patients with low or intermediate-1 risk myelodysplastic syndromes (MDS): preliminary results from a phase 2 study [abstract]. *Blood*. 2014;124:Abstract 411.
 51. Komrokji R, Garcia-Manero G, Ades L, et al. Low-risk myelodysplastic syndromes (MDS) and anemia requiring transfusion [abstract]. *Haematologica*. 2015;100:Abstract S510.

Γενετικοί τροποποιητές της έκφρασης της εμβρυικής αιμοσφαιρίνης - Η επίπτωσή τους στην κλινική ετερογένεια και τις θεραπευτικές προοπτικές της β-θαλασσαιμίας

ΑΓΓΕΛΙΚΗ ΜΠΑΛΑΣΟΠΟΥΛΟΥ

Βιολόγος, Υπεύθυνη Εργαστηρίου Γενετικής, Κέντρο Μεσογειακής Αναιμίας, Γ.Ν. Λαϊκό, Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι θαλασσαιμίες ανήκουν στις συχνότερα απαντώμενες γενετικές ασθένειες.¹ Οι μεταλλάξεις που συνέβησαν στα σφαιρινικά γονίδια εγκαταστάθηκαν στους πληθυσμούς, κατά τη διάρκεια της εξέλιξης, σε περιοχές όπου ενδημούσε η ελονοσία. Η επικράτηση οφείλεται στο προνόμιο των ετεροζυγωτών (heterozygote advantage), εφόσον αυτοί παρουσίαζαν ανθεκτικότητα έναντι της νόσου. Σήμερα υπολογίζεται ότι ετησίως, γεννιούνται περίπου 40.000 παιδιά με Θαλασσαιμία.² Αντιστοίχως οι φορείς της νόσου ανέρχονται παγκοσμίως σε 80 εκατομμύρια, τα δε περιστατικά εντοπίζονται κυρίως στις χώρες της Μεσογείου, της ΝΑ Ασίας και της Αφρικής.

Λόγω των μεταναστευτικών ροών τα τελευταία έτη, το πρόβλημα της θαλασσαιμίας απασχολεί πλέον και τις χώρες της Βόρειας και Κεντρικής Ευρώπης.

Οι θαλασσαιμίες συνιστούν μια ετερογενή νοσολογική οντότητα που οφείλεται στη μειωμένη ή μηδενική σύνθεση α ή/και β σφαιρινικών αλυσίδων και κατ'επέκταση στη μειωμένη παραγωγή της αιμοσφαιρίνης Α (HbA, α₂β₂). Ανάλογα με τα γονίδια που παραβλάπτονται διακρίνονται σε α (μειωμένη παραγωγή α αλυσίδων) και β (μειωμένη παραγωγή β αλυσίδων) θαλασσαιμίες. Στην Ελλάδα συχνότερη είναι η β θαλασσαιμία. Η παθοφυσιολογία της β θαλασσαιμίας, οφείλεται αφενός στην μειωμένη παραγωγή αιμοσφαιρίνης αφετέρου στην καταστροφή των ερυθροκυττάρων λόγω της κατακρήμνισης των μετουσιωμένων α αλυσίδων που βρίσκονται σε περίσσεια.

Σφαιρινικά γονίδια

Δύο γενετικοί τόποι, οι συστοιχίες των α γονιδίων (α globin gene cluster chr.16) και του β γονιδίου (β globin gene cluster chr.11) ευθύνονται για την παραγωγή των α και β σφαιρινικών αλυσίδων αντιστοίχως, οι οποίες με τη σειρά τους συγκροτούν το τετραμερές α₂β₂ που με την προσθήκη της αίμης παράγει το μόριο της HbA. Διεθνώς έχουν καταγραφεί περισσότερες από 1000 μεταλλάξεις (HbVar <http://globin.bx.psu.edu/hbvar>) οι οποίες ευθύνονται για τη νόσο, παρουσιάζουν χαρακτηριστική κατανομή σε εθνικό πληθυσμιακό επίπεδο και επηρεάζουν την κλινική βαρύτητά της. Πρόκειται για μεταλλάξεις όλων των τύπων (σημειακές, μικρές και μεγάλες ελλείψεις, ανεμνηνεύσιμες, παρεμνηνεύσιμες κ.λπ.). Σημαντικότερες λόγω της υψηλής συχνότητας και της βαρύτητας της κλινικής εικόνας είναι οι σημειακές μεταλλάξεις σε λειτουργικές περιοχές του γονιδίου της β σφαιρίνης.

Μετά την πρώτη περιγραφή τους, ως διακριτή νοσολογική οντότητα στις αρχές του 20ου αιώνα οι θαλασσαιμίες αλλά και οι άλλες αιμοσφαιρινοπάθειες παραμένουν έως σήμερα, οι ευρύτερα διερευνημένες γενετικές νόσοι.

Κλινική ετερογένεια της β-θαλασσαιμίας και παράγοντες που την επηρεάζουν

Η κλινική εκδήλωση της β-θαλασσαιμίας παρουσιάζει μεγάλη ετερογένεια. Κύρια εκδήλωση είναι η αναιμία η οποία κυμαίνεται από ήπια έως σοβαρού βαθμού

αναιμία εξαρτώμενη από μεταγγίσεις. Οι υποκείμενες γενετικές βλάβες και η σχετική βαρύτητά τους εξηγούν ως ένα βαθμό την ετερογένεια αυτή, χωρίς όμως να υπάρχει πάντα ευθεία αντιστοίχιση μεταξύ γονοτύπου-φαινοτύπου. Γενικά, η βαρύτητα της νόσου σχετίζεται με την ανισορροπία σύνθεσης μεταξύ των α και β σφαιρινικών αλυσίδων και την παρουσία ελεύθερων α αλυσίδων. Έτσι κάθε παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει αυτή την ανισορροπία, είτε μειώνοντας την περίσσεια α αλυσίδων, είτε αυξάνοντας τη σύνθεση των β/γ αλυσίδων, παρέχει βελτιωτικό αποτέλεσμα στην κλινική εικόνα.³

Για παράδειγμα η συγκληρονόμηση μεταλλάξεων-ελλείψεων των α σφαιρινικών γονιδίων που έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του πλεονάσματος των ελεύθερων α αλυσίδων, συμβάλλει σημαντικά στην ηπιότερη κλινική εκδήλωση της Θαλασσαιμίας.⁴ Οι παρατηρήσεις αυτές οδηγούν στο συμπέρασμα ότι εκτός από τις υποκείμενες βλάβες των α και β σφαιρινικών γονιδίων, άλλοι τροποποιητικοί γονιδιακοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες επηρεάζουν τον κλινικό φαινότυπο των θαλασσαιμικών συνδρόμων.

Η μελέτη και κατανόηση των μοριακών μηχανισμών της έκφρασης των γονιδίων της σφαιρίνης παρέχει σημαντικές γνώσεις και ανοίγει νέες προοπτικές στην ανεύρεση νέων θεραπευτικών σχημάτων για τους πάσχοντες.

Γενετικοί τροποποιητές της έκφρασης της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης (HbF $\alpha_2\gamma_2$)

Η εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη αποτελεί την κύρια αιμοσφαιρίνη της εμβρυϊκής ζωής και αντιστοιχεί στο 90% της συνολικής αιμοσφαιρίνης κατά τη χρονική αυτή περίοδο. Μετά τη γέννηση μειώνεται σταδιακά και αντικαθίσταται σχεδόν πλήρως, μετά τον πρώτο χρόνο της εξωμήτριας ζωής, από την HbA. Ποσοστό HbF έως 2% σε ενήλικους θεωρείται εντός φυσιολογικών πλαισίων. Η επαγωγή της σύνθεσής της μειώνει την ανισορροπία μεταξύ των α και β αλυσίδων που παρατηρείται στις β θαλασσαιμίες και ελαττώνει την καταστροφική δράση που προξενεί η κατακρήμνιση των ελεύθερων α αλυσίδων.^{5,6} Έτσι η παρουσία της HbF αποτελεί ένα θεμελιώδη τροποποιητικό-βελτιωτικό παράγοντα της κλινικής εικόνας των θαλασσαιμιών, η δε επανενεργοποίησή της, αποτελεί σύγχρονο θεραπευτικό στόχο.

Ποσοτικοί γονιδιακοί τόποι (Quantitative Trait Loci, QTL, cis- και trans-)

Η έκφραση των γονιδίων της συστοιχίας του β γο-

νιδίου ελέγχεται από την περιοχή LCR (Locus Control Region), που περιλαμβάνει πέντε υπερεαίσθητες θέσεις στη DNase I (HS 1-5) και εντοπίζεται στην 5' περιοχή του ε σφαιρινικού γονιδίου.

Η έκφραση των γ σφαιρινικών γονιδίων, επηρεάζεται και από άλλους γονιδιακούς τόπους, (ποσοτικούς QTLs) που είτε είναι συνδεδεμένοι (linked), είτε μη συνδεδεμένοι (unlinked) με τη β -γονιδιακή συστοιχία. Στους συνδεδεμένους παράγοντες συγκαταλέγονται τα cis-δρώντα στοιχεία, τα οποία αποτελούν αλληλουχίες DNA που ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων και εντοπίζονται στο ίδιο μόριο DNA (χρωμόσωμα) με αυτά. Στους μη συνδεδεμένους (unlinked) παράγοντες ανήκουν τα trans-δρώντα στοιχεία, τα οποία αποτελούν αλληλουχίες DNA που εδράζονται σε διαφορετικούς γενετικούς τόπους από αυτούς που επηρεάζουν άμεσα σε επίπεδο έκφρασης των γονιδίων.

CIS-Δρώντα στοιχεία

Η συνεχιζόμενη έκφραση της HbF σε ενήλικα άτομα ονομάζεται κληρονομική παραμονή της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης (HPFH). Οι υποκείμενες γενετικές βλάβες, ανήκουν στα cis-δρώντα στοιχεία και εντοπίζονται στη συστοιχία των β γονιδίων. Περιλαμβάνουν μεγάλες ελλείψεις στην 3' περιοχή των γ -γονιδίων ιδιαίτερα στην περιοχή μεταξύ των $\text{A}\gamma$ και δ -γονιδίων και έχουν ως αποτέλεσμα την απαλοιφή αποσιωπητών των γ -γονιδίων^{7,8} και κατά συνέπεια τη συνεχιζόμενη έκφραση των γονιδίων αυτών και την μη επαρκή μεταστροφή της HbF σε HbA.

Εκτός από τις μεγάλες ελλείψεις, σημειακές μεταλλάξεις και μικρές ελλείψεις που εντοπίζονται στους υποκινητές των γ -γονιδίων σχετίζονται με την παραμονή της HbF σε ενήλικα άτομα και επηρεάζουν άμεσα την έκφραση του συγκεκριμένου γ γονιδίου στο οποίο εντοπίζονται.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο πολυμορφισμός (SNP-μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός) Xmnl C>T , που εντοπίζεται στη θέση -158 του υποκινητή του $\text{G}\gamma$ γονιδίου.⁹ Αποτελεί συχνή παραλλαγή σε όλες τις πληθυσμιακές ομάδες με συχνότητα 0.32-0.35. Η παρουσία του αλληλομόρφου T και ιδιαίτερα του γονοτύπου TT συνδέεται με την αυξημένη παραγωγή της HbF (3-11 φορές ανά $\text{G}\gamma$ γονίδιο), γεγονός που συμβάλλει στην ηπιότερη κλινική εκδήλωση της θαλασσαιμίας (10).

Επίσης μια σπάνια παραλλαγή στη θέση -117 G>A (υποκινητής $\text{A}\gamma$ γονιδίου) σε ετερόζυγη μορφή ευθύνεται για την σημαντική ποσοτική αύξηση της HbF (10%-20%) -με χαρακτηριστική αποκλειστική έκφραση του $\text{A}\gamma$ γονιδίου- σε υγιείς ενήλικες (Ελληνικού τύπου μη ελλειπτική HPFH, 11).

Οι ποσοτικοί γονιδιακοί τόποι ευθύνονται για το 20-50% της ποικιλομορφίας που απαντάται στη διακύμανση των επιπέδων της HbF σε πάσχοντες από Θαλασσαιμία και Δρεπανοκυτταρική Νόσο.¹²

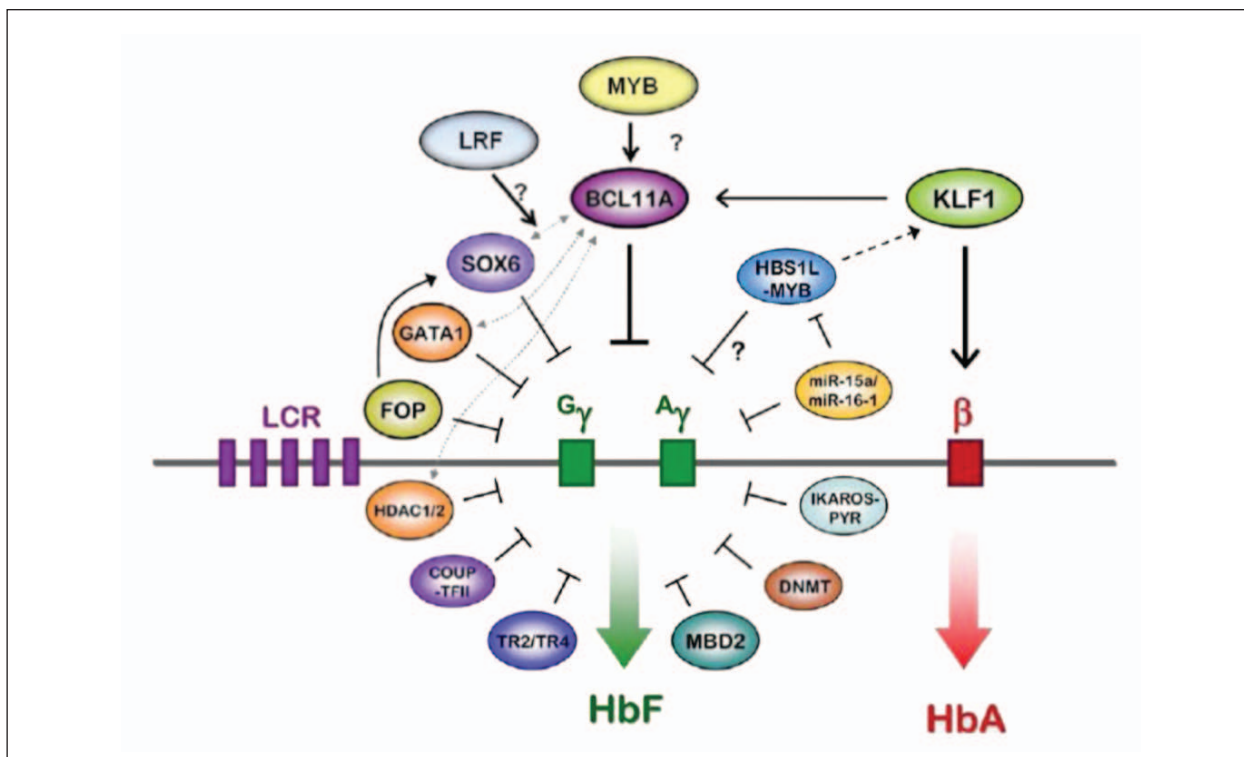
TRANS- Δρώντα στοιχεία

Η αποκωδικοποίηση του ανθρώπινου γονιδιώματος το 2001^{13,14} και οι επακόλουθες μελέτες ανάπτυξης γονιδιωματικής κλίμακας (GWAS), που πραγματοποιούνται χάρη στην ανάπτυξη σύγχρονων μεθοδολογιών (πλατφόρμες γονοτύπησης υψηλής απόδοσης, εξελιγμένα προγράμματα βιοπληροφορικής) κατέστησαν δυνατή τη χαρτογράφηση, μη-συνδεδεμένων ποσοτικών γονιδιακών τόπων. Πρόκειται για γενομικές περιοχές που ελέγχουν ποσοτικά χαρακτηριστικά συγκεκριμένων φαινοτύπων-χαρακτηριστικών, χωρίς να βρίσκονται στον ίδιο γενετικό τόπο με τα γονίδια που ελέγχουν το συγκεκριμένο γονότυπο.

Τα QTLs χαρτογραφούνται μέσω γενετικών δεικτών (SNPs), οι οποίοι εμφανίζουν συσχέτιση σύνδεσης με συγκεκριμένα ποσοτικά χαρακτηριστικά.

Έως σήμερα έχουν χαρτογραφηθεί αρκετοί ποσοτικοί γονιδιακοί τόποι (QTLs) όπως οι BCL11A, HBS1L-MYB, KLF1, COUP-TF, FOP, Ikaros, MBD2, NF-E4, NRF2 και τα miR-15 και 16, που σχετίζονται με την παραγωγή της HbF, εντοπίζονται σε ποικίλες χρωμοσωμικές περιοχές^{15,16} και επηρεάζουν την επαγωγή έκφρασης των γ σφαιρινικών γονιδίων (Εικόνα 1). Κάποια από τα QTLs κωδικοποιούν trans-δρώντες παράγοντες που αλληλεπιδρούν με άλλους παράγοντες μέσα στο β-σφαιρινικό σύμπλεγμα, και επιδρούν άμεσα στην μεταγραφή των γονιδίων. Άλλα QTLs, όπως η «HBS1L-MYB διαγονιδιακή περιοχή» (HBS1L-MYB intergenic region, HMIP) στο χρωμόσωμα 6q23, επιδρούν στην παραγωγή F-κυττάρων τροποποιώντας την κινητική της ερυθροποίησης, που χαρακτηρίζει την υπό στρες ερυθροποίηση στη Θαλασσαιμία.¹⁷

Τα πιο χαρακτηριστικά QTLs που σήμερα είναι γνωστό ότι έχουν σημαντικά ενεργό ρόλο στην επαγωγή της έκφρασης των γ σφαιρινικών γονιδίων και των επιπέδων της HbF αναφέρονται αναλυτικά παρακάτω. Πρόκειται για το ογκογονίδιο BCL11A, τον



Εικόνα 1. Ρύθμιση της έκφρασης της HbF από cis- και trans- δρώντα στοιχεία-τροποποιητικούς παράγοντες. Σχηματική αναπαράσταση της περιοχής LCR των γ γονιδίων, του β γονιδίου καθώς και των σημαντικότερων τροποποιητικών-μεταγραφικών παραγόντων που εμπλέκονται στη διαδικασία μεταστροφής (switching) της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης (HbF) (Orkin SH, Genomics: Gene discovery and clinical application for cardiovascular, lung and blood diseases. September 2011, NIH Bethesda).

μεταγραφικό παράγοντα SOX6-SRY, τη διαγονιδιακή περιοχή μεταξύ των γονιδίων HBS1L1 και MYB και τέλος τον μεταγραφικό παράγοντα KLF1. Επιπρόσθετα γίνεται αναφορά στον ρόλο των miR-15a και 16 στη διαδικασία επαγωγής σύνθεσης HbF.

Γονίδιο BCL11A

Το ογκογονίδιο αυτό, χαρτογραφείται στο χρωμόσωμα 2p15 και μέχρι πρόσφατα θεωρείτο ότι λόγω της εμπλοκής του, στο μηχανισμό της λευχαιμογένεσης σχετίζεται αποκλειστικά με αιματολογικές κακοήθειες.¹⁸ Η συσχέτισή του με την επαγωγή της HbF έγινε γνωστή τα τελευταία χρόνια μέσω πληθυσμιακών μελετών GWAS.¹⁵

Λειτουργικές μελέτες σε πρώιμα ερυθροειδικά κύτταρα αλλά και σε ποντίκια απέδειξαν ότι η πρωτεΐνη BCL11A, δρα ως καταστολέας της μεταγραφής των γ-γονιδίων και παίζει σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση της μεταστροφής της έκφρασης από την εμβρυική στην αιμοσφαιρίνη των ενηλίκων.^{19,20} Επιπρόσθετα, αποδείχθηκε πως η πρωτεΐνη BCL11A αλληλεπιδρά άμεσα με τη χρωματίνη του β-γονιδιακού τόπου στα προγονικά ερυθροειδικά κύτταρα και λειτουργεί ως μέρος του συμπλέγματος με τον μεταγραφικό παράγοντα GATA1 και του συμπλέγματος καταστολής της χρωματίνης, γνωστό ως NuRD.

Όλα τα SNPs που ανιχνεύονται στην περιοχή αυτή, αφορούν κοινούς πολυμορφισμούς όπου η χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης αλληλομόρφου ανέρχεται περίπου σε 10%.¹² Αναλυτικότερες μελέτες έχουν αποδείξει ότι συγκεκριμένα SNPs του BCL11A γονιδίου όπως τα rs11886868, rs4671393, rs7557939 και rs11886868 συνδέονται με αυξημένες τιμές HbF και ηπιότερες κλινικές εκδηλώσεις ιδιαίτερα σε πάσχοντες από Δρεπανοκυτταρική Νόσο.²¹

Γονίδιο SOX6 -SRY (Sex determining region X-box)

Ο μεταγραφικός παράγοντας SOX6, εδράζεται στο χρωμόσωμα 11p15.3 και παίζει σημαντικό ρόλο στην αποσιώπηση των γονιδίων της γ-σφαιρίνης του ποντικού,²² ενώ για την αποσιώπηση των ανθρώπινων γονιδίων της γ-σφαιρίνης, προσδένεται στον εγγύς υποκινητή τους, αφού προηγουμένως αλληλεπιδράσει με τον μεταγραφικό παράγοντα BCL11A.

Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο ο παράγοντας SOX6, αποσιωπά την έκφραση των γ-σφαιρινών παραμένει ασαφής. Προτείνεται ότι η λειτουργία αυτή επιτυγχάνεται μέσω αλληλεπιδράσεων με μεταγραφικούς παράγοντες, όπως ο BCL11A που δεσμεύουν τη χρωματίνη στους εγγύς γ-σφαιρινικούς υποκινητές,

καθώς και μέσω μακρινότερων αλληλεπιδράσεων σε μια ποικιλία περιοχών σε ολόκληρο το β-γονιδιακό τόπο.²³

HBSL1-MYB DNA περιοχή

Πρόκειται για διαγονιδιακή περιοχή 24kb (HMIP block 2) στο χρωμόσωμα 6q23 μεταξύ των γονιδίων HBS1L και MYB, παραλλαγές της οποίας έχουν ισχυρή επίδραση στα επίπεδα της HbF στον άνθρωπο. Η κατανόηση του μηχανισμού δράσης με τον οποίο αυτές οι παραλλαγές οδηγούν σε τροποποίηση των επιπέδων της HbF, είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς οι γενετικές παραλλαγές σε αυτό το γενετικό τόπο έχουν μεγαλύτερη επίδραση στην κλινική εικόνα των β θαλασσαιμιών, συγκριτικά με αυτές που βρίσκονται στο γενετικό τόπο του BCL11A.

Παρόλο που η υπερέκφραση του HBS1L δεν φαίνεται να επηρεάζει την έκφραση του γ-γονιδίου στα K562 ερυθρολευχαιμικά κύτταρα, η υπερέκφραση του MYB παρατηρήθηκε ότι επηρεάζει τα επίπεδα της γ-σφαιρίνης που παράγονται σε αυτά τα κύτταρα. Πιθανολογείται ότι η παρουσία ρυθμιστικών στοιχείων στην περιοχή HMIP block 2, ρυθμίζει την έκφραση του MYB, το οποίο με τη σειρά του επηρεάζει την ερυθροειδική διαφοροποίηση και εμμέσως την παραγωγή της HbF.²⁴

Άμεση απαλοιφή (knockdown) του γονιδίου MYB σε πρωτογενή πρόδρομα ερυθροειδικά κύτταρα ενήλικα, οδήγησε σε δραματική αύξηση της έκφρασης του γ-γονιδίου.²⁰ Η αύξηση αυτή μπορεί να οφείλεται είτε στην επίδραση του MYB στην κινητική της ερυθροποίησης, είτε στην άμεση επίδραση του, μέσα στο β-γονιδιακό τόπο. Μέχρι στιγμής όμως, ο μηχανισμός ρύθμισης των επιπέδων της HbF από το γονίδιο MYB παραμένει αδιευκρίνιστος.²⁵

Γονίδιο KLF1

Το γονίδιο του KLF1 εδράζεται στο μικρό βραχίονα του χρωμοσώματος 19 και συγκεκριμένα στη θέση 19p13.2, εκφράζεται κυρίως σε ερυθροειδικά κύτταρα και σε κύτταρα του συνδετικού ιστού.

Η λειτουργική πρωτεΐνη προϊόν αποτελείται από 3 δάκτυλα ψευδαργύρου, τύπου Cys₂His₂, στο καρβοξυτελικό της άκρο και αλληλουχίες πλούσιες σε προλίνη στο αμινοτελικό άκρο.

Η πρωτεΐνη του KLF1, αλληλεπιδρά με το DNA χάρη στην τριτοταγή της δομή. Μέσω των δακτύλων ψευδαργύρου προσδένεται σε αλληλουχίες που βρίσκονται σε υποκινητές, ενισχυτές και LCR περιοχές μεγάλου αριθμού γονιδίων.²⁶ Έτσι, ο KLF1 δρα είτε ενεργοποιώντας είτε καταστέλλοντας τη μεταγραφή.

Η πρωτεΐνη του KLF1 απομονώθηκε για πρώ-

τη φορά το 1993 από MEL κύτταρα (καλλιέργειες ερυθρολευχαιμικής κυτταρικής σειράς ποντικού). Η έκφρασή του, εντοπίστηκε στα ερυθροποιητικά όργανα του ποντικού, δηλαδή στο μυελό των οστών και στο σπλήνα. Λόγω της ειδικής έκφρασής του στα ερυθροκύτταρα, ονομάζεται και Ερυθροειδικός Kruppel-like Παράγοντας (EKLF).²⁷

Αποτελεί το πρώτο μέλος της οικογένειας KLF, γι' αυτό και ονομάστηκε KLF1. Η KLF οικογένεια αποτελείται από 17 μέλη και συνιστά υποοικογένεια των SP/ XKLF μεταγραφικών παραγόντων (Specificity Protein/ Kruppel-Like Factor).²⁸ Κοινό τους χαρακτηριστικό, είναι μια περιοχή 81 αμινοξέων, η οποία αποτελείται από τρία παρόμοια δάκτυλα ψευδαργύρου τύπου Cys₂His₂ στο καρβοξυλικό άκρο, και χρησιμεύουν ως σημεία πρόσδεσης των KLFs στο DNA (DNA-binding domains).

Βιολογικός Ρόλος του KLF1

Ο κύριος ρόλος του KLF1, όπως προκύπτει από πειράματα με διαγονιδιακά ποντίκια KLF1^{-/-} (knockdown) που φέρουν τον πλήρη ανθρώπινο β-γονιδιακό τόπο, εντοπίζεται στη μεταστροφή της έκφρασης των γονιδίων των ανθρωπίων σφαιρινών ανάλογα με το στάδιο της οντογένεσης (γ σφαιρίνη > β-σφαιρίνη). Η απάλειψη του KLF1 σε αυτά τα ποντίκια, είχε ως αποτέλεσμα την απουσία της έκφρασης του β-γονιδίου, ενώ η έκφραση του γ-γονιδίου παρέμεινε αυξημένη.²⁹ Επίσης αποδείχθηκε πως ασκεί θετική ρύθμιση στην έκφραση του BCL11A.³⁰ Άμεση απόδειξη της εμπλοκής του γονιδίου KLF1 με την αύξηση της παραγωγής HbF, αποτέλεσε η σύνδεση της HPFH που εμφάνιζε οικογένεια Μαλτέζικης καταγωγής με μια ανερμηνεύσιμη μετάλλαξη στο γονίδιο KLF1.³¹ Η μελέτη πρόδρομων ερυθροειδικών κυττάρων, ατόμων με HPFH και υγιών μαρτύρων απέδειξε ότι τα υψηλά επίπεδα της HbF οφείλονται εν μέρει στην αποσιωπητική δράση του παράγοντα KLF1 στο BCL11A. Πρόσφατες μελέτες προτείνουν πως σπάνιοι πολυμορφισμοί στο γονίδιο KLF1 σχετίζονται με αύξηση των επιπέδων της HbF, η οποία όμως παρουσιάζει διακυμάνσεις ακόμα και σε περιπτώσεις των ίδιων παραλλαγών.³²

Τρόποι ρύθμισης της μεταστροφής της έκφρασης της HbF από τον KLF1

Άμεση ρύθμιση της ενεργοποίησης μεταγραφής του β-γονιδίου μέσω δημιουργίας τρισδιάστατης δομής-θελιάς

Η ενεργοποίηση της μεταγραφής του β-γονιδίου πραγματοποιείται με τη δημιουργία μεγάλων ή και

μικρότερων θηλιών (loops) που φέρουν σε γεινίαση την περιοχή LCR (Locus Control Region) με την περιοχή του υποκινητή του γονιδίου της β-σφαιρίνης. Σε αυτήν την περίπτωση ο KLF1 προσδένεται πιο ειδικά στον υποκινητή του γονιδίου της β-σφαιρίνης έναντι αυτού της γ σφαιρίνης.³³

Έμμεση αποσιώπηση των γ-γονιδίων, με ενεργοποίηση μεταγραφικών καταστολέων

Ο KLF1 ρυθμίζει την έκφραση πρωτεϊνών που προσδένονται στον υποκινητή του γ-γονιδίου και καταστέλλουν την έκφρασή του. Μια τέτοια πρωτεΐνη είναι η BCL11A.

Ο KLF1 προσδένεται στον υποκινητή του γονιδίου BCL11A και ενεργοποιεί τη μεταγραφή του. Μεταλλάξεις στο γονίδιο KLF1 συνδέονται με μειωμένη παραγωγή mRNA του γονιδίου BCL11A με συνεπακόλουθο τη μη αποσιώπηση των γ γονιδίων και την αυξημένη παραγωγή της HbF.^{31,34}

Επίσης η έκφραση του γονιδίου MYB ρυθμίζεται από τον KLF1. Ο μηχανισμός περιλαμβάνει ενεργοποίηση της γεινίασης των ρυθμιστικών στοιχείων - ενισχυτών που βρίσκονται στην περιοχή μεταξύ των γονιδίων MYB και HBS1L με τον υποκινητή του MYB). Σύγχρονες αναφορές περιγράφουν ένα μεταγραφικό μοντέλο στα ερυθροειδικά κύτταρα, όπου ο KLF1 και ο MYB αλληλοενεργοποιούνται.³⁵

Ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, ώστε να προωθηθεί ο σχηματισμός F cells (ερυθροκυττάρων που περιέχουν HbF)

Ένας ακόμα τρόπος με τον οποίο ο KLF1 επηρεάζει τα επίπεδα της HbF είναι μέσω της ρύθμισης του βαθμού ερυθροποίησης, ελέγχοντας τον κυτταρικό κύκλο.^{36,37}

miRNAs

Τα miRNAs είναι μικρά μη μεταφραζόμενα RNA μόρια (≈22bp), τα οποία εμπλέκονται στο μηχανισμό αποσιώπησης του RNA, καθώς και στη μετα-μεταφραστική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Την τελευταία δεκαετία αποτελούν ερευνητικό στόχο, εφόσον έχει αναγνωριστεί ο ρόλος τους, στην τροποποίηση του φαινοτύπου διαφόρων νοσημάτων.

Πρόσφατες λειτουργικές και γενετικές μελέτες,³⁸ που πραγματοποιήθηκαν σε ανθρώπινα κύτταρα, τα οποία προέρχονται από άτομα με τρισωμία 13 και εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα HbF, έδειξαν ότι στα κύτταρα αυτά παρατηρείται υπερέκφραση των

miR-15a και 16-3. Πιστεύεται ότι η αύξηση της HbF, επιτυγχάνεται λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης των miR-15a και 16-3. Η υπερέκφρασή τους, λειτουργεί αναδραστικά στην έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα MYB, γεγονός που στη συνέχεια έχει ως αποτέλεσμα την αδυναμία αποσιώπησης των γ σφαιρινικών γονιδίων (Εικόνα 2).

Προοπτικές, στόχοι και αξιοποίηση ευρημάτων

Ο κύριοι στόχοι της μελέτης των μηχανισμών επαγωγής της έκφρασης της HbF είναι:

Επίτευξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων

Μία από τις βασικές επιδιώξεις είναι η προσπάθεια ανάπτυξης ασφαλών φαρμακολογικών παραγόντων, που στόχο θα έχουν την εξειδικευμένη δράση μέσω της ενεργοποίησης των γ-γονιδίων. Οι μέχρι σήμερα ακολουθούμενες θεραπευτικές προσεγγίσεις περιλαμβάνουν κυρίως μεταγγίσεις, αποσιδήρωση και συνεχή ιατρική παρακολούθηση μέσω και των εξελιγμένων απεικονιστικών μεθόδων. Η χρήση φαρμακολογικών παραγόντων (π.χ υδροξυουρία), οι οποίοι προάγουν την αύξηση της HbF, μειώνουν τη μη αποδοτική ερυθροποίηση και συμβάλλουν μεν στη θεραπευτική αντιμετώπιση των δρεπανοκυτταρικών συνδρόμων χωρίς όμως ειδική και στοχευμένη δράση. Επιπρόσθετα η θεραπεία αυτή δεν είναι αποδοτική στη θαλασσαιμία. Επιπλέον η μεταμόσχευση μυελού η οποία αποτελεί τη ριζική θεραπεία, παρουσιάζει αρκετές δυσκολίες και προϋποθέσεις τέτοιες, ώστε

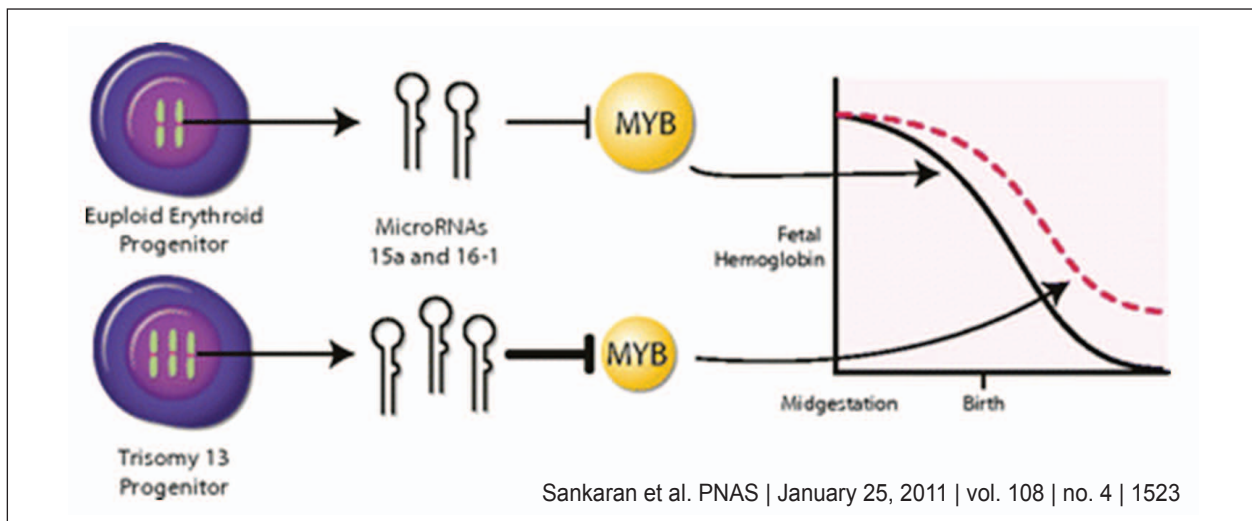
μικρό μόνον ποσοστό ασθενών να έχει θεραπευτικό αποτέλεσμα. Επίσης κάποιες από τις παραπάνω θεραπευτικές προσεγγίσεις είναι κοστοβόρες και συχνά μη διαθέσιμες σε αρκετές αναπτυσσόμενες χώρες, όπου και παρατηρείται μεγάλος αριθμός πασχόντων. Υπό αυτήν την έννοια, η ανάπτυξη εναλλακτικών φθηνών εξειδικευμένων φαρμακολογικών παραγόντων, βασισμένων στις γνώσεις που προέρχονται, από τα σύγχρονα επιτεύγματα της γενετικής καθίσταται επιτακτική.

Νέα θεραπευτικά σχήματα που θα στοχεύουν απ' ευθείας στο μηχανισμό ενεργοποίησης των γ-γονιδίων και θα εξασφαλίζουν την βέλτιστη επαγωγή της HbF αποτελούν σήμερα έναν πολλά υποσχόμενο ερευνητικό τομέα.

Αξιοποίηση των δεδομένων στην ανάπτυξη προγνωστικών δεικτών σχετικά με την κλινική βαρύτητα της νόσου

Η ασφαλής πρόγνωση της κλινικής βαρύτητας και η επαρκής συσχέτιση γονοτύπου- φαινοτύπου αποτελεί παγίως, ζήτημα μείζονος σημασίας στο πεδίο της Γενετικής του Ανθρώπου. Αυτή η προσέγγιση αποτελεί βοηθητικό χαρακτηριστικό τόσο στη διαχείριση των ασθενών (αποφάσεις σχετικά με την έναρξη μεταγγίσεων, πιθανή απόκριση σε νέους φαρμακευτικούς παράγοντες και πιθανότητα συμμετοχής σε κλινικές δοκιμές), όσο και στο επίπεδο της γενετικής συμβουλευτικής στο πλαίσιο του προγεννητικού ελέγχου.

Προκειμένου να είναι ασφαλής η εξαγωγή συμπερασμάτων από αλγορίθμους που θα αξιοποιούν τα ευρήματα από τη μελέτη των τροποποιητικών παρα-



Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση του μοντέλου λειτουργίας των microRNAs 15a και 16-3 σε περιστατικά τρισωμίας 13.

γόντων, θα πρέπει να έχει προηγηθεί εκτεταμένος έλεγχος στους συγκεκριμένους πληθυσμούς όπου τα δεδομένα αυτά θα χρησιμοποιηθούν.

Ο αλγόριθμος TSS (Thalassemia Severity Score),³⁹ αποτελεί την πρώτη προσπάθεια πρόγνωσης της κλινικής βαρύτητας με βάση δεδομένα ανάλυσης των τροποποιητικών παραγόντων. Συγκεκριμένα οι δείκτες που αξιοποιούνται είναι: ο πολυμορφισμός XmnI, ο γονότυπος των α-γονιδίων, δύο SNPs του γονιδίου BCL11A (rs1427407 και rs10189857) και ένα SNP της διαγονιδιακής περιοχής HBS1L-MYB (rs9399137).

Οι τιμές των αποτελεσμάτων κυμαίνονται από 0 έως 10, σε μια κλίμακα αυξανόμενης βαρύτητας της νόσου και συσχέτισμού με την πιθανότητα επιβίωσης χωρίς μετάγγιση.

Η μελέτη των τροποποιητικών παραγόντων της HbF, αποτελεί παράδειγμα-οδηγό, στην κατανόηση των ποσοτικών χαρακτηριστικών στη Γενετική του Ανθρώπου, καθώς και στην κατανόηση των βιολογικών χαρακτηριστικών τους και την εμπλοκή τους στην ανθρώπινη νόσο.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Weatherall DJ. The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden. *Blood*. 2010; 115:4331-4336.
- Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull World Health Organ*. 2008;86:480-487.
- Joly P, Pondarre C, Badens C. Beta-thalassemias: molecular, epidemiological, diagnostic and clinical aspects. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2014; 72:639-668.
- Premawardhena A, De Silver S, Arambepola M, Olivieri NF, Vichinsky EP, Merson L, et al. Hemoglobin E-beta-thalassemia: Progress report from the International Study Group. *Ann N Y Acad Sci*. 2005; 1054:33-95.
- Karimi M, Haghpanah S, Taher AT, Cappellini MD. β -Thalassemia: New Therapeutic Modalities, Genetics, Complications, and Quality of Life. *Anemia*. 2012; 2012:902067.
- Breda L, Rivella S, Zuccato C, Gambari R. Combining gene therapy and fetal hemoglobin induction for treatment of β -thalassemia. *Expert Rev Hematol*. 2013; 6: 255-64.
- Huisman T, Schroeder W, Efremov G, Duma H, Mladenovski B, Hyman C et al. The present status of the heterogeneity of fetal hemoglobin in β -thalassemia: An attempt to unify some observations in thalassemia and related conditions. *Ann NY Acad Sci*. 1974;232(1 Third Confere):107-124.
- Gazouli M, Katsantoni E, Kosteas T, Anagnou NP. Persistent fetal gamma-globin expression in adult transgenic mice following deletion of two silencer elements located 3' to the human A gamma-globin gene. *Mol Med*. 2009;15:415-24.
- Gilman JG, Huisman TH. DNA sequence variation associated with elevated fetal G gamma globin production. *Blood*. 1985;66:783-7.
- Garner C, Tatu T, Game L, Cardon LR, Spector TD, Farrall M et al. A candidate gene study of F cell levels in sibling pairs using a joint linkage and association analysis. *GeneScreen*. 2000;1:9-14.
- Huisman T, Schroeder W, Stamatoyannopoulos G, Bouver N, Shelton J, Shelton J et al. Nature of fetal hemoglobin in the Greek type of hereditary persistence of fetal hemoglobin with and without concurrent β -thalassemia. *Journal of Clinical Investigation*. 1970;49:1035-1040.
- Thein SL, Menzel S, Lathrop M, Garner C. Control of fetal hemoglobin: new insights emerging from genomics and clinical implications. *Hum Mol Genet*. 2009;18(R2):216-223.
- Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li, PW, Mural RJ, Sutton GG et al. The sequence of the human genome. *Science*. 2001;291:1304-51.
- Lander E, Linton L, Birren B, Nusbaum C, Zody M, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001;409:860-921.
- Menzel S, Garner C, Gut I, Matsuda F, Yamaguchi M, Heath S et al. A QTL influencing F cell production maps to a gene encoding a zinc-finger protein on chromosome 2p15. *Nat. Genet*. 2007;39:1197-1199.
- Uda M, Galanello R, Sanna S, Lettre G, Sankaran V, Chen W et al. Genome-wide association study shows BCL11A associated with persistent fetal hemoglobin and amelioration of the phenotype of thalassemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2008;105:1620-1625.
- Thein SL. Genetic modifiers of the beta-haemoglobinopathies. *Br J Haematol*. 2008; 141:357-66.
- Weniger MA, Pulford K, Gesk S, Ehrlich S, Banham AH, Lyne L et al. Gains of the proto-oncogene BCL11A and nuclear accumulation of BCL11A(XL) protein are frequent in primary mediastinal B-cell lymphoma. *Leukemia*. 2006; 20:1880-2.
- Sankaran V, Menne T, Xu J, Akie T, Lettre G, Van Handel B et al. Human Fetal Hemoglobin Expression Is Regulated by the Developmental Stage-Specific Repressor BCL11A. *Science*. 2008;322:1839-1842.
- Sankaran VG, Xu J, Ragoczy T, Ippolito GC, Walkley CR, Malke SD et al. Developmental and species-divergent globin switching are driven by BCL11A. *Nature*. 2009;460:1093-7.
- Thein SL. Genetic modifiers of sickle cell disease. *Hemoglobin*. 2011;35:589-606.
- Yi Z, Cohen-Barak O, Hagiwara N, Kingsley PD, Fuchs DA, Erickson DT et al. Sox6 directly silences epsilon globin expression in definitive erythropoiesis. *PLoS Genet*. 2006; 2:14.
- Xu J, Sankaran VG, Ni M, Menne TF, Puram RV, Kim W, et al. Transcriptional silencing of gamma-globin by BCL11A involves long-range interactions and cooperation.

- tion with SOX6. *Genes Dev.* 2010;24:783-798.
24. Jiang J, Best S, Menzel S, Silver N, Lai MI, Surdulescu GL et al. cMYB is involved in the regulation of fetal hemoglobin production in adults. *Blood.* 2006;108:1077-1083.
 25. Higgs DR, Wood WG. Genetic complexity in sickle cell disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2008;105:11595-11596.
 26. Borg J, Patrinos GP, Felice AE, Philipson S. Erythroid phenotypes associated with KLF1 mutations. *Haematologica.* 2011;96:635-8.
 27. Cao A, Galanello R. Beta-thalassemia. *Genet Med.* 2010; 12:61-76.
 28. Pei J, Grishin NV. C2H2 zinc finger proteins of the SP/KLF, Wilms tumor, EGR, Hucklebein, and Klumpfuss families in metazoans and beyond. *Gene.* 2015;573:91-99.
 29. Hodge D. A global role for EKLF in definitive and primitive erythropoiesis. *Blood.* 2006;107:3359-3370.
 30. Zhou D, Liu K, Sun C, Pawlik K, Townes T. KLF1 regulates BCL11A expression and γ - to β -globin gene switching. *Nature Genetics.* 2010;42:742-744.
 31. Borg J, Papadopoulos P, Georgitsi M, Gutiérrez L, Grech G, Fanis P, et al. Haploinsufficiency for the erythroid transcription factor KLF1 causes hereditary persistence of fetal hemoglobin. *Nature Genetics.* 2010;42:801-805.
 32. Gallienne A, Dreau H, Schuh A, Old J, Henderson S. Ten novel mutations in the erythroid transcription factor KLF1 gene associated with increased fetal hemoglobin levels in adults. *Haematologica.* 2011;97:340-343.
 33. Caterina J, Donze D, Sun C, Ciavatta D, Townes T. Cloning and functional characterization of LCR-F1: a bZIP transcription factor that activates erythroid-specific, human globin gene expression. *Nucl Acids Res.* 1994;22:2383-2391.
 34. Bauer D, and Orkin S. Update on fetal hemoglobin gene regulation in hemoglobinopathies. *Current Opinion in Pediatrics.* 2011;23:1-8.
 35. Bianchi E, Zini R, Salati S, Tenedini E, Norfo R, Tagliafico E et al. c-myb supports erythropoiesis through the transactivation of KLF1 and LMO2 expression. *Blood.* 2010;116:e99-e110.
 36. Pang C, Lemsaddek W, Alhashem Y, Bondzi C, Redmond L, Ah-Son N, et al. Kruppel-Like Factor 1 (KLF1), KLF2, and Myc Control a Regulatory Network Essential for Embryonic Erythropoiesis. *Molecular and Cellular Biology.* 2012;32:2628-2644.
 37. Tallack MR, Whittington T, Yuen WS, Wainright EN, Keys JR, Gardiner BB, et al. A global role for KLF1 in erythropoiesis revealed by ChIP-seq in primary erythroid cells. *Genome Res.* 2010;20:1052-1063.
 38. Sankaran V, Menne T, Skepanovic D, Vergilio JA, Peng J, Jinkuk K, et al. MicroRNA-15a and -16-1 act via MYB to elevate fetal hemoglobin expression in human trisomy 13 PNAS. 2010;108:1519-1524.
 39. Danjou F, Francavilla M, Anni F, Satta S, Demartis F, Perseu L et al. A genetic score for the prediction of beta-thalassemia severity. *Haematologica.* 2014;100:452-457.

Προγράμματα Διαχείρισης Μεταγγίσεων (Patients Blood Management, PBM)

ΑΣΠΑΣΙΑ ΑΡΓΥΡΟΥ¹, ΑΝΘΗ ΓΑΦΟΥ¹, ΕΛΙΣΑΒΕΤ ΓΡΟΥΖΗ²

¹N.Y. Αιμοδοσίας, Γ.Ο.Ν.Κ. “Οι Άγιοι Ανάργυροι”, Αθήνα, ²N.Y. Αιμοδοσίας, Α.Ο.Ν.Α. “Ο Άγιος Σάββας”, Αθήνα

Μετάγγιση αίματος: Δεν είναι πάντα η καλύτερη λύση

Η αλλογενής μετάγγιση αίματος αποτελεί μια από τις συχνότερες ιατρικές πρακτικές. Μελέτες αναφέρουν ότι στις ΗΠΑ κατά το διάστημα 1997-2011, οι παραμονές στο νοσοκομείο για τη διεξαγωγή μετάγγισης αυξήθηκαν κατά 134%, ενώ σε απόλυτο αριθμό οι μεταγγίσεις αγγίζουν τα 13000000 μονάδες ετησίως.^{1,2} Δεδομένου δε ότι οι ακολουθούμενες πρακτικές μετάγγισης ποικίλουν όσον αφορά στο όριο αιμοσφαιρίνης στο οποίο αποφασίζεται μετάγγιση, έχει βρεθεί ότι η χρήση αίματος μπορεί να είναι και ως τέσσερις φορές περισσότερη από γιατρό σε γιατρό για την ίδια περίπτωση ασθενούς.³

Οι ακολουθούμενες πρακτικές μετάγγισης κατηγοριοποιούνται σε «περιοριστική» πρακτική (συστήνεται η μετάγγιση αίματος σε αιμοδυναμικά σταθερό ασθενή με τιμή αιμοσφαιρίνης μικρότερη από 7-8 gr/dl) και σε «ελεύθερη» πρακτική (ο ασθενής μεταγγίζεται ακόμη κι αν έχει υψηλότερη τιμή αιμοσφαιρίνης).⁴ Η χρήση ελεύθερης τακτικής μεταγγίσεων ωστόσο, έχει αποδειχθεί ότι οδηγεί συχνά σε μη ενδεδειγμένη χρήση αίματος. Σε ανασκόπηση 450 περιστατικών που αφορούσαν σε νοσηλευόμενους ασθενείς (παθολογικούς, τραυματίες, χειρουργικούς), προέκυψε ότι ακολουθώντας την τακτική αυτή, το 59% των μεταγγίσεων που έγιναν ζητήθηκαν με αιμοσφαιρίνη μεγαλύτερη των 10 gr/dl, ενώ το 71% των περιστατικών που μεταγγίσθηκαν είχαν αιμοσφαιρίνη μεταξύ 8 και 9.9 gr/dl.⁵

Στις μέρες μας, η ελεύθερη χρήση παραγώγων αίματος αντιμετωπίζεται με όλο και μεγαλύτερο σκεπτικισμό, μετά από τα αποτελέσματα πολλών αναδρομικών μελετών που όχι μόνο δεν αποδεικνύουν

ότι οι ασθενείς που μεταγγίζονται ωφελούνται από τη μετάγγιση, αλλά αντίθετα εντοπίζεται σαφής και ευθεία αιτιολογική σύνδεση της μετάγγισης με αυξημένη συχνότητα επιπλοκών. Η μετάγγιση ακόμη και μίας και μόνο μονάδας αίματος συχνά αναφέρεται ως το «δεύτερο πλήγμα»⁶ που οδηγεί στην εκδήλωση ανεπιθύμητων ενεργειών από τον ήδη επιβαρυσμένο ασθενή, όπως υπερφόρτωση κυκλοφορίας (TACO), οξεία πνευμονική βλάβη (TRALI), έμφραγμα μυοκαρδίου, επαγόμενη από τη μετάγγιση ανοσοτροποποίηση (TRIM), υποτροπές καρκίνου και εμφάνιση άλλων νοσημάτων (π.χ. νόσο Hodgkin), μετεγχειρητικές λοιμώξεις, καθυστέρηση επούλωσης τραυμάτων. Το αποτέλεσμα σε κάθε περίπτωση είναι αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα, παρατεταμένη παραμονή στο νοσοκομείο, μεγαλύτερη πιθανότητα επανεισαγωγής σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά το εξιτήριο. Στα παραπάνω, προστίθεται και ο κίνδυνος της μετάδοσης παθογόνων. Μπορεί η βελτιστοποίηση των μεθόδων ανίχνευσης να έχει ελαχιστοποιήσει τη μετάδοση γνωστών παθογόνων (HBV, HCV, HIV), όμως η εμφάνιση αναδυόμενων και επανα-αναδυόμενων παθογόνων αποτελεί μόνιμη πρόκληση για τα συστήματα αιμοεπαγρύπνησης ανά τον κόσμο.

Η εκλογίκευση της χρήσης αίματος επιβάλλεται και από την περιορισμένη διαθεσιμότητα των αποθεμάτων του. Οι νέες διαγνωστικές και θεραπευτικές μέθοδοι αντιμετώπισης των ασθενών έχουν οδηγήσει σταδιακά στην παράταση του προσδόκιμου επιβίωσής τους. Η γήρανση του πληθυσμού προκαλεί αύξηση των αναγκών σε αίμα: ενώ για ασθενείς <40 ετών οι ανάγκες υπολογίζονται σε 5 μονάδες/1000 άτομα, στους ασθενείς >70 ετών οι ανάγκες ανέρχονται στις 200 μονάδες/1000 άτομα. Εξάλλου, η σταδιακή

γήρανση του αιμοδοτικού πληθυσμού καθώς και η διαρκής εφαρμογή όλο και αυστηρότερων κανόνων στην επιλογή του αιμοδότη οδηγούν στην ελάττωση της δεξαμενής των υποψήφιων αιμοδοτών. Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι ο κίνδυνος ελάττωσης των αποθεμάτων αίματος είναι ορατός στο προσεχές διάστημα.⁷

Μία τρίτη παράμετρος που επηρεάζεται από την τακτική μετάγγισης, είναι τα οικονομικά των νοσοκομείων. Οι Shander και συν απέδειξαν πως η μετάγγιση αίματος αποτελεί μια από τις ακριβότερες πρακτικές, κοστίζοντας πάνω από το 5% του συνολικού κόστους για θέματα υγείας στις αναπτυγμένες χώρες. Κάθε νοσοκομείο των Η.Π.Α. ξοδεύει ετησίως 1.62-6 εκατομμύρια \$ για μεταγγίσεις σε χειρουργικούς ασθενείς και το εύρος αυτό στο κόστος συνδέεται ισχυρά με την ακολουθούμενη πολιτική μετάγγισης. Υπολογίζεται ότι το κόστος αυτό θα μπορούσε να μειωθεί κατά περίπου 40% εάν ακολουθούσαν περιοριστική πολιτική μεταγγίσεων.⁸ Πολλά νοσοκομεία αδυνατούν να αντιληφθούν το πραγματικό κόστος μια μετάγγισης, το οποίο δεν ανέρχεται απλά στο κόστος απόκτησης της μονάδας αλλά στο συνολικό κόστος που προκύπτει και από το συνυπολογισμό της αντιμετώπισης των ανεπιθύμητων ενεργειών της. Στην Ελλάδα η μέση τιμή του κόστους απόκτησης μιας μονάδας ερυθροκυττάρων αγγίζει τα 131.49 € (εύρος 94.96 - 239.2 € ανάλογα με τη Νοσοκομειακή Υπηρεσία Αιμοδοσίας) και είναι υποτετραπλάσια του συνολικού κόστους μετάγγισης.⁹

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η ανάγκη εφαρμογής προγραμμάτων διαχείρισης της αιμοθεραπείας σε κάθε νοσοκομείο κρίνεται απαραίτητη, αφού μόνο έτσι τίθεται σε λιγότερο κίνδυνο η υγεία των ασθενών, ενώ συγχρόνως εξοικονομούνται αποθέματα αίματος, χρόνος και υλικό πόροι.

Προγράμματα Διαχείρισης Αιμοθεραπείας (Patients Blood Management, PBM)

Με τον όρο «Πρόγραμμα Διαχείρισης Αιμοθεραπείας» εννοούμε ένα σύνολο από στρατηγικές που στηρίζονται στην τεκμηριωμένη ιατρική γνώση, αντιπροσωπεύουν αυτό που ορίζουμε ως «καλή πρακτική» («good practice»), εφαρμόζονται με στόχο τη βέλτιστη αντιμετώπιση του ασθενούς με αναιμία και έχουν ως αποτέλεσμα τον όσο το δυνατό μεγαλύτερο περιορισμό των μεταγγίσεων παραγώγων αίματος. Πρόκειται για μια πολυδιάστατη εξατομικευμένη θεραπευτική προσέγγιση που επιτελείται μέσα από τη διαχρονική συνεργασία επιστημονικού προσωπικού πολλών και διαφορετικών ειδικοτήτων και προσπαθεί

να ανιχνεύσει, να ρυθμίσει και να αντιμετωπίσει έγκαιρα παράγοντες κινδύνου για αναιμία, πριν η ανάγκη για μετάγγιση εκδηλωθεί με επιτακτικό τρόπο.¹⁰

Η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO) υιοθέτησε για πρώτη φορά το PBM το 2010 με τη σύσταση WHA63.12 προς τα 193 κράτη μέλη της, ώστε να προωθήσουν τη θεσμοθέτηση αντίστοιχων προγραμμάτων. Η Αυστραλία ήταν η πρώτη χώρα που θεσμοθέτησε σε εθνικό επίπεδο την εφαρμογή προγραμμάτων PBM σε διάφορες κατηγορίες ασθενών (χειρουργικοί, πολυτραυματίες, παθολογικοί, ασθενείς ΜΕΘ, γυναικολογικοί-μαιευτικοί, παιδιατρικοί, νεογνά).¹¹ Στην Ευρώπη η Ολλανδία έχει εθνικό πρόγραμμα PBM, ενώ πρόσφατα το Εθνικό Σύστημα Υγείας του Ηνωμένου Βασιλείου πρότεινε επίσημα την εφαρμογή PBM ως προγραμμάτων βελτίωσης της Ποιότητας.¹² Στα υπόλοιπα κράτη, όπως και στις ΗΠΑ, δεδωμένης της έλλειψης συντονισμένων εθνικών προγραμμάτων, η πρωτοβουλία αφήνεται στα κατά τόπους νοσοκομεία και τις εκεί Νοσοκομειακές Επιτροπές Ιατρικής των Μεταγγίσεων (NEIM).

Αναφορικά με τις NEIM υπενθυμίζεται ότι η WHO το 2003 συστήνει ότι σε κάθε νοσοκομείο πρέπει να ιδρυθεί NEIM με στόχο την εφαρμογή της εθνικής πολιτικής για το αίμα, καθώς και των κατευθυντήριων οδηγιών και για τη χρήση του αίματος σε τοπικό επίπεδο. Στην Ελλάδα οι NEIM θεσμοθετήθηκαν νομοθετικά το 2000 (ΦΕΚ Β' 1132/11-9-2000), αρκετά νωρίτερα από τη σύσταση της WHO. Σύμφωνα με την απόφαση αυτή «σε κάθε Νοσηλευτικό Ίδρυμα Ν.Π.Δ.Δ. ή Ν.Π.Ι.Δ. που εποπτεύεται από το Υπουργείο Υγείας και Πρόνοιας συστήνεται με απόφαση του ΔΣ μετά από γνώμη της Επιστημονικής Επιτροπής, Νοσοκομειακή Επιτροπή Ιατρικής των Μεταγγίσεων». Σκοπός της Επιτροπής είναι η ορθολογική χρήση του αίματος και των Προϊόντων του από τα Κλινικά Τμήματα των Νοσοκομείων και ο περιορισμός των ανεπιθύμητων συμβάντων κατά τη μεταγγισιοθεραπεία, περιλαμβανομένων και των λοιμώξεων που μεταγγίζονται με το αίμα. Στους στόχους της Επιτροπής περιλαμβάνονται όλα όσα περιλαμβάνονται στη θεσμοθέτηση των NEIM των άλλων Ευρωπαϊκών χωρών. Επιπλέον ο νόμος 3402/2005 (ΦΕΚ Α'/258/17-10-2005, Αναδιοργάνωση του συστήματος Αιμοδοσίας και λοιπές διατάξεις) προβλέπει ότι οι Νοσοκομειακές Υπηρεσίες Αιμοδοσίας σε συνεργασία με τις NEIM «παρέχουν συμβουλές προς τους θεράποντες ιατρούς για τη σωστή χρήση του αίματος και των παραγώγων του.

Ένα πρόγραμμα PBM περιλαμβάνει πολλές μορφές κλινικής φροντίδας και παροχής υπηρεσιών υγείας στους ασθενείς, που συνολικά αποβλέπουν στη βελτίωση του κλινικού αποτελέσματος για τον αναιμικό

ασθενή, όχι μέσα από την εφαρμογή της «κλασσικής» τακτικής της μετάγγισης, αλλά αντιθέτως, μέσω της ελαχιστοποίησης των μεταγγίσεων, με την εφαρμογή άλλου τύπου παρεμβάσεων που γίνονται σε εύθετο χρόνο. Αν και στο πλαίσιο αυτό η προσέγγιση του κάθε ασθενούς είναι εξατομικευμένη, ωστόσο γενικά μπορούμε να πούμε ότι οι παρεμβάσεις που περιλαμβάνει ένα πρόγραμμα PBM κατηγοριοποιούνται στους εξής τρεις βασικούς «πυλώνες»:^{9,13}

1. Βελτιστοποίηση αιμοποίησης
2. Ελαχιστοποίηση απωλειών αίματος κατά τη διάρκεια εγχειρήσεων και άλλων διαγνωστικών και θεραπευτικών παρεμβάσεων
3. Βελτιστοποίηση ανοχής στην αναιμία και προσαρμογή μετάγγισης στις ανάγκες του ασθενούς.

Βελτιστοποίηση αιμοποίησης

Προϋπάρχουσα ήπια έως μέτρια αναιμία μπορεί να διαγνωστεί σε ποσοστό έως 80% των ασθενών που υποβάλλονται σε προγραμματισμένο χειρουργείο. Η αναιμία αυτή θα μπορούσε να ελεγχθεί, να διερευνηθεί και να αντιμετωπισθεί ικανοποιητικά, με την προσέλευση του ασθενούς σε εξωτερικό ιατρείο όπου γίνεται όλη η προετοιμασία του για τη χειρουργική επέμβαση (κλινική εκτίμηση, αναισθησιολογική εκτίμηση, προετοιμασία πλάνου χειρουργικής επέμβασης). Σκόπιμη είναι η αναβολή του χειρουργείου μέχρι την επαρκή αντιμετώπιση της αναιμίας, ώστε ο ασθενής να εισαχθεί για επέμβαση υπό τις καλύτερες δυνατές συνθήκες όσον αφορά στο επίπεδο αιμοσφαιρίνης του.

Συνήθως πρόκειται σε ποσοστό 30-35% για στερητικού τύπου αναιμία (έλλειψη σιδήρου, B12) και σε αντίστοιχο ποσοστό για αναιμία στα πλαίσια υποκείμενου νοσήματος ή αναιμία χρόνιας νόσου, ενώ στις υπόλοιπες περιπτώσεις το αίτιο αναιμίας είναι άγνωστο.¹⁴

Η χορήγηση από του στόματος ή ενδοφλέβιου σιδήρου ενδείκνυται στις περιπτώσεις σιδηροπενίας, στη σωστή δοσολογία για την υποκατάσταση του ελλείματος και την πλήρωση των αποθηκών σιδήρου και λαμβάνοντας μέριμνα για την άμεση αντιμετώπιση τυχόν σοβαρών παρενεργειών από τη χορήγησή του (αλλεργική αντίδραση). Η υποκατάσταση σιδήρου μεγιστοποιεί το όφελος από τη συγχορήγηση ερυθροποιητίνης, ενισχύει την καρδιακή και νεφρική λειτουργία και βελτιώνει τη φυσική κατάσταση του ασθενούς.

Στις περιπτώσεις με αναιμία χρόνιας νόσου (AXN), όπου υπάρχει λειτουργική σιδηροπενία, αναστολή της παραγωγής ερυθροποιητίνης και βράχυνση της διάρκειας ζωής των ερυθροκυττάρων, έχει βρεθεί

ότι οι ασθενείς ανταποκρίνονται καλά στη χρήση ερυθροποιητίνης η οποία πρέπει να ξεκινήσει 4-6 εβδομάδες πριν το προγραμματισμένο χειρουργείο. Δεδομένου ότι στις περιπτώσεις AXN η αναιμία θα μπορούσε να θεωρηθεί ως ένας μηχανισμός προσαρμογής του οργανισμού στη χρόνια νόσο, κρίνεται σκόπιμη η βελτίωση της αιμοσφαιρίνης του ασθενούς σε επίπεδα όχι μεγαλύτερα των 13 gr/dl.¹⁵

Τα παραπάνω μέτρα για τη βελτιστοποίηση της αιμοποίησης πρέπει να εφαρμόζονται τόσο προεγχειρητικά όσο και μετεγχειρητικά. Ειδικά κατά τη μετεγχειρητική περίοδο, η αιμοποίηση μπορεί να παρεμποδίζεται και από τη δράση φαρμάκων που δρουν μυελοκατασταλτικά. Το ενδεχόμενο αυτό πρέπει πάντα να λαμβάνεται υπόψιν και να διερευνάται από τον θεράποντα ιατρό η πιθανότητα τροποποίησης – εφόσον είναι εφικτό - της φαρμακευτικής αγωγής του ασθενούς.

Ελαχιστοποίηση απωλειών αίματος κατά τη διάρκεια εγχειρήσεων και άλλων διαγνωστικών και θεραπευτικών παρεμβάσεων

Η περιεγχειρητική αιμορραγία αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα και επάγει διαταραχές στην αιμόσταση που με τη σειρά τους επιτείνουν τις απώλειες αίματος. Για τον λόγο αυτόν είναι εξέχουσας σημασίας ο κατά το δυνατόν μεγαλύτερος έλεγχος της αιμορραγικής διάθεσης καθόλο το διάστημα πριν, κατά και μετά την προγραμματισμένη επέμβαση.

Σε προεγχειρητικό επίπεδο, είναι σημαντικό να αναγνωρίζεται ο ασθενής με αιμορραγική διάθεση. Λεπτομερής λήψη ατομικού και οικογενειακού ιστορικού, και εξετάσεις εκτίμησης του αιμοστατικού προφίλ μπορούν να αναγνωρίσουν τους ασθενείς αυτούς, ενώ με ειδικούς αλγορίθμους για τη στάθμιση του αιμορραγικού έναντι του θρομβωτικού κινδύνου μπορεί να γίνει η μετάβαση με θεραπεία γεφύρωσης από την από του στόματος αντιπηκτική αγωγή που μέχρι τώρα λάμβαναν, σε αγωγή με ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους. Επιπλέον μπορεί να καταρτισθεί εκ των προτέρων ειδικό χειρουργικό και αναισθησιολογικό πλάνο, προσαρμοσμένο στο «αιμοστασιολογικό» προφίλ του ασθενούς.

Κατά τη διάρκεια της επέμβασης, οι απώλειες αίματος μπορεί να περιορισθούν με χρήση:

- σύγχρονων χειρουργικών τακτικών (π.χ. λαπαροσκοπική έναντι ανοικτής επέμβασης, στερεοτακτική ακτινοχειρουργική, χειρουργική με τη χρήση λέιζερ, σταδιοποίηση περίπλοκων επεμβάσεων, «damage control surgery», ελαχιστοποίηση κύκλων

εξωσωματικής κυκλοφορίας)

- ειδικών χειρουργικών τεχνικών (κατάλληλη τοποθέτηση του ασθενούς στο χειρουργικό τραπέζι, αρτηριακός εμβολισμός, απολινώσεις αγγείων, ίσχαιμος περιίδεση)
- εργαλείων/μηχανημάτων (διαθερμικό νυστέρι μικροκυμάτων, ηλεκτροκαυτηρίαση, νυστέρι υπερήχων, συσκευή πήξης με ακτίνα αργού, συσκευές εξωσωματικής κυκλοφορίας για καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις σε νεογνά και παιδιά) και υλικών/φαρμάκων (αιμοστατικοί επίδεσμοι, κόλλες ινικής, τοπικά αιμοστατικά, αντινωδολυτικά, δεσμοπρεσίνη, σύμπλεγμα ενεργοποιημένων παραγόντων πήξης).

Αντίστοιχα, οι αναισθησιολόγοι μπορούν να εφαρμόζουν:¹⁶

- ειδικές μεθόδους αναισθησίας (πχ επισκληρίδιο έναντι ολικής ενδοφλέβιας αναισθησίας), και
- τεχνικές όπως: ελεγχόμενη υπόταση, διατήρηση νορμοθερμίας με θέρμανση των χορηγούμενων υγρών, χορήγηση υψηλής συγκέντρωσης O₂, αντικατάσταση απωλειών όγκου με τα κατάλληλα υγρά, σταθεροποίηση κυκλοφορίας, αποκατάσταση οξεοβασικής ισορροπίας, διόρθωση ηλεκτρολυτικών διαταραχών .

Η επαναχορήγηση του αίματος που χάνεται κατά τη διάρκεια μιας επέμβασης με κυτταρικούς διαχωριστές (Cell salvage) υπολογίζεται ότι μειώνει την πιθανότητα αλλογενούς μεταγγίσης σε προγραμματισμένες ορθοπαιδικές και καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις κατά 38%.¹⁷ Η χρήση των μηχανημάτων αυτών ενδείκνυται και σε άλλες κατηγορίες επεμβάσεων πχ αγγειοχειρουργικές επεμβάσεις μεγάλων αγγείων, μεταμόσχευση ήπατος, καθώς επίσης και υπό προϋποθέσεις (μετά από λευκαφαίρεση και ακτινοβολήση με δόση 50 Gy για θανάτωση των καρκινικών κυττάρων) σε ογκολογικά χειρουργεία.¹⁸ Η χρήση τους αντενδείκνυται όταν υπάρχει σηπτική επιμόλυνση του χειρουργικού τραύματος.

Καθόλη τη διάρκεια της διεγχειρητικής και άμεσα μετεγχειρητικής παρακολούθησης του ασθενούς, σημαντικό ρόλο παίζει και η χρήση point of care (POC) αναλυτών. Τα μηχανήματα αυτά πλεονεκτούν έναντι των συμβατικών αναλυτών εργαστηρίου διότι κατά κανόνα χρειάζονται υποπολλαπλάσια ποσότητα αίματος (πολλές φορές λιγότερη των 0.5 ml), ενώ ως εκ της θέσης τους (στο χώρο του χειρουργείου ή της ΜΕΘ) δίνουν τη δυνατότητα στον κλινικό ιατρό να εκτιμήσει άμεσα την εργαστηριακή εικόνα του ασθενούς και να οργανώσει έτσι το «μεταγγισιολογικό πλάνο» του.

Ειδικά για τους θρομβοελαστογράφους, ο σφαιρικός έλεγχος αιμόστασης που προσφέρουν (διαδικασία πήξης και ινωδόλυσης) μπορεί να οδηγήσει μέσω ειδικών αλγορίθμων στην ελαχιστοποίηση των μεταγγίσεων¹⁹ και στη χορήγηση του παραγώγου εκείνου που μπορεί πραγματικά να διορθώσει την αιμορραγία, και όχι στην τυφλή χορήγηση φρέσκου καταψυγμένου πλάσματος που συχνά χρησιμοποιείται ως «προϊόν - πανάκεια» για κάθε αιμορραγική διάθεση.¹⁵

Όσον αφορά στις απώλειες αίματος που οφείλονται στις διαγνωστικές αιμοληψίες, έχει βρεθεί ότι η ύπαρξη κεντρικών καθετήρων συνδέεται με αυξημένες απώλειες αίματος, τόσο κατά την τοποθέτησή τους όσο και καθ' όλη τη διάρκεια της παραμονής τους. Ένας εγκατεστημένος κεντρικός καθετήρας αυξάνει ως και κατά 33% το συνολικό αριθμό των διενεργούμενων εξετάσεων και ως και 44% την ποσότητα του αίματος που λαμβάνεται από τον ασθενή, αφού προσφέρει ανά πάσα στιγμή τη δυνατότητα για απρόσκοπτη αιμοληψία. Επιπλέον, κατά τη χρήση του η απώλεια αίματος αυξάνει, αφού ο αιμολήπτης απορρίπτει τα πρώτα 2-10 ml αίματος, διότι περιέχουν φυσιολογικό ορό με τον οποίο καθαρίστηκε ο καθετήρας μετά την τελευταία χρήση του.²⁰ Η επιστροφή αυτής της ποσότητας αίματος στον ασθενή μέσω απλού καθετήρα ή μέσω ειδικών συσκευών αιμοληψίας που είναι κατάλληλες για επαναχορήγηση, έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να μειώσει τον αριθμό των απαιτούμενων μεταγγίσεων (από 0.13 σε 0.07 μονάδες/ ασθενή ημερησίως).

Η χρήση φιαλιδίων αιμοληψίας μικρότερου όγκου ή φιαλιδίων για παιδιατρική χρήση, είναι ένας τρόπος ελάττωσης των απωλειών αίματος που σχετίζονται με τις αιμοληψίες. Μελέτες δείχνουν ότι η χρήση τους μπορεί να αποφέρει από 33% ως και 80% μείωση του χρησιμοποιούμενου αίματος.²¹ Η μη επεμβατικού τύπου παρακολούθηση των ασθενών (π.χ. μέτρηση τιμών O₂, CO₂, Hb μέσω ειδικών μηχανημάτων) ελαττώνει ακόμη περισσότερο τις απώλειες αίματος λόγω αιμοληψιών.²²

Στην κατεύθυνση της ελαχιστοποίησης των απωλειών αίματος για διαγνωστικές εξετάσεις, σημαντική είναι και η καλλιέργεια αντίληψης στον κλινικό ιατρό σχετικά με «την τέχνη του να επιλέγει τι χρειάζεται να γνωρίζει για τον ασθενή», ζητώντας τις απαραίτητες μόνο εξετάσεις για την ασφαλή παρακολούθησή του, καθώς και την δυνατότητα οργάνωσης της διαγνωστικής προσπέλασης του ασθενούς με τρόπο τέτοιο ώστε να απαιτείται ο ελάχιστος δυνατός αριθμός αιμοληψιών.²³

Βελτιστοποίηση ανοχής στην αναιμία και προσαρμογή μετάγγισης στις ανάγκες του ασθενούς

Η αιμοσφαιρίνη είναι μεταφορέας οξυγόνου προς τα κύτταρα του οργανισμού. Ενδεχόμενη ελάττωση της τιμής της αιμοσφαιρίνης θα μπορούσε να αντιροπηθεί με υποβοήθηση της πνευμονικής λειτουργίας και βελτιστοποίηση της παροχής O₂ στον οργανισμό. Η πρόληψη και η επαρκής αντιμετώπιση των λοιμώξεων μπορεί επίσης να βοηθήσει στην βελτιστοποίηση της ανοχής στην αναιμία, μέσω ελάττωσης στην κατανάλωση O₂. Η διατήρηση σταθερής αιμοδυναμικής κατάστασης, η μέριμνα για διατήρηση νορμοογκαιμίας και η αντιμετώπιση των καρδιολογικών προβλημάτων του ασθενούς, σταθεροποιούν την κατάσταση του καρδιοαγγειακού συστήματος και μεγιστοποιούν την καρδιακή παροχή.²⁴

Στόχος της μετάγγισης αίματος είναι η ενίσχυση της δυνατότητας μεταφοράς οξυγόνου και κατά συνέπεια η σταθεροποίηση και αύξηση της διαθεσιμότητάς του τόσο τοπικά σε συγκεκριμένα όργανα, όσο και σε όλον τον οργανισμό. Οι κατευθυντήριες οδηγίες για τη μετάγγιση βασίζονται στη συνεκτίμηση της τιμής αιμοσφαιρίνης και της κλινικής κατάστασης του ασθενούς. Σε ένα πρόγραμμα PBM, η τακτική των μεταγγίσεων έχει χαρακτήρα περισσότερο εξατομικευμένο, προσβλέποντας στην κατά το δυνατό λιγότερη έκθεση του ασθενούς στην αλλογενή μετάγγιση. Στο πλαίσιο αυτό λαμβάνονται υπόψιν οι παράγοντες κινδύνου του ασθενούς (ηλικία, διάγνωση, συννοσηρότητα), η εργαστηριακή του εικόνα, η ύπαρξη/απουσία αιμορραγίας, άλλες φυσιολογικές παράμετροι (οξυγόνωση, αιμοδυναμική κατάσταση) και εκτιμάται ποιος είναι ο βαθμός της αναιμίας που μπορεί να γίνει ανεκτός με ασφάλεια από αυτόν.²⁵⁻²⁷ Επιπλέον λαμβάνεται υπόψιν η θέση του ασθενούς σχετικά με την προοπτική μετάγγισης και η ύπαρξη ή όχι συγκατάθεσης η οποία πρέπει να εξασφαλίζεται μετά από ενημέρωση σχετικά με τα οφέλη και τις παρενέργειες της διαδικασίας.²⁸⁻³¹ Εφόσον συναποφασίζεται η χορήγηση αίματος, αυτή θα πρέπει να είναι σύμφωνη με τις εθνικές κατευθυντήριες οδηγίες. Σε αντίθετη περίπτωση, ζητείται αιτιολόγηση από τον γιατρό που ζητά τη μονάδα, ιδανικά μέσω ηλεκτρονικού συστήματος (decision support making system) ώστε να εξασφαλίζεται η δυνατότητα εντοπισμού των ιατρών που εφαρμόζουν πρακτικές εκτός κατευθυντήριων γραμμών.^{24,32} Εφόσον υπάρχει ένδειξη μετάγγισης, ζητείται κάθε φορά μία μονάδα αίματος (“single unit policy”) και γίνεται κλινική και εργαστηριακή επανεκτίμηση του ασθενούς πριν από κάθε νέα παραγγελία (“transfuse and assess strategy”).^{24, 26}

Εφαρμογή των Προγραμμάτων Διαχείρισης Αιμοθεραπείας

Η εφαρμογή προγραμμάτων διαχείρισης αιμοθεραπείας στα νοσοκομεία έχει άμεσο αντίκτυπο στην ελάττωση των κινδύνων από τις μεταγγίσεις (ελάττωση νοσηρότητας και θνησιμότητας), στην παροχή καλύτερων υπηρεσιών υγείας προς τον ασθενή τη διασφάλιση επάρκειας αίματος, αλλά και στην εξοικονόμηση οικονομικών πόρων (βράχυνση διάρκειας νοσηλείας, εξοικονόμηση πόρων από την ελάττωση των μεταγγίσεων, λιγότερη απασχόληση του προσωπικού κλινικών και εργαστηρίων).

Παρά τα αδιαμφισβήτητα οφέλη του PBM, η πρακτική εφαρμογή και καθιέρωσή του πολλές φορές συναντά εμπόδια.³³⁻³⁶ Τα συνηθέστερα εξ αυτών είναι η έλλειψη ενημέρωσης του προσωπικού των κλινικών για τις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες και η άγνοια ή αδυναμία εφαρμογής τους στην καθ'ήμερα πράξη, η εμπέδωση και παγίωση λανθασμένων τακτικών, η προβληματική επικοινωνία μεταξύ των εμπλεκόμενων στη μετάγγιση πλευρών, η ύπαρξη κλίματος σύγχυσης λόγω ασαφών οδηγιών και πολυφωνίας για θέματα μεταγγισιοθεραπείας, η έλλειψη χρόνου - οικονομικών πόρων - προσωπικού - τεχνογνωσίας για την εκπαίδευση του προσωπικού, καθώς και η αντίσταση των κλινικών ιατρών να συμμορφωθούν, να δικαιολογήσουν ή ακόμη και να λογοδοτήσουν στα πλαίσια μιας πιο ελεγχόμενης και περιοριστικής διαδικασίας που αφορά σε μια πρακτική που έως τώρα εφαρμόζαν πολύ πιο ελεύθερα στους ασθενείς τους. Η κατανόηση αυτών των εμποδίων, καθώς και η ανάλυση των αναγκών, των συμπεριφορών και των τακτικών που απαντώνται σε ένα νοσοκομείο όσον αφορά στα θέματα μεταγγισιοθεραπείας, είναι αναγκαίες προϋποθέσεις για την εφαρμογή ενός προγράμματος PBM.³⁷

Κάθε νοσοκομείο πρέπει να διαθέτει ειδική επιτροπή για την εφαρμογή, καθιέρωση και επικαιροποίηση του προγράμματος PBM. Η επιτροπή αυτή, που σε αρκετά νοσοκομεία ταυτίζεται με τη NEIM είναι διατμηματική και διεπιστημονική: μπορεί να περιλαμβάνει άτομα από το νοσηλευτικό, τεχνολογικό και διοικητικό προσωπικό και φυσικά ιατρούς διαφόρων ειδικοτήτων και κατά κανόνα ειδικοτήτων που ασχολούνται με τη μετάγγιση (αιματολόγοι, χειρουργοί αναισθησιολόγοι, παθολόγοι, καρδιολόγοι, γαστρεντερολόγοι κλπ). Η ποικιλία ειδικοτήτων και ιδιοτήτων του προσωπικού που συμμετέχει στην επιτροπή διαχείρισης αιμοθεραπείας επιδιώκεται γιατί έτσι διασφαλίζεται η καλύτερη επικοινωνία μεταξύ των τμημάτων και η μεγαλύτερη βιωσιμότητα όλου του εγχειρήματος. Η επιλογή ενός

υπεύθυνου διαχειριστή (transfusion safety officer, TSO) είναι κεφαλαιώδους σημασίας, καθώς ο ρόλος του είναι βασικός για το συντονισμό της επικοινωνίας, τη διασύνδεση, τη συγκέντρωση στοιχείων, τη συγκριτική αξιολόγηση, την εκπαίδευση και την ενημέρωση του προσωπικού. Υπό την επίβλεψη του μπορεί να γίνει κινητοποίηση διαφόρων τμημάτων του Νοσοκομείου προς την κατεύθυνση της εφαρμογής του PBM (πχ εφοδιασμός των εργαστηρίων με μικρού όγκου φιαλίδια αίματος για εξετάσεις, προμήθεια από το φαρμακείο αιμοστατικών φαρμάκων, κινητοποίηση της Διοίκησης για προμήθεια εξελιγμένων μηχανημάτων για το χειρουργείο, εκπαίδευση και ενημέρωση ιατρικού και νοσηλευτικού προσωπικού). Επιπλέον, η Επιτροπή PBM ενημερώνει τους ασθενείς για θέματα μετάγγισης (πιθανότητα μετάγγισης, διαθέσιμες εναλλακτικές μέθοδοι για αποφυγή μετάγγισης, εξασφάλιση συναίνεσης του ασθενούς στη μετάγγιση), καθώς και το κοινό για θέματα αιμοδοσίας και για εξειδικευμένες υπηρεσίες μεταγγισιοθεραπείας που προσφέρει το νοσοκομείο.³⁸

Η Επιτροπή PBM συντονίζει όλες τις δράσεις που αφορούν στα τρία βασικά χαρακτηριστικά ενός προγράμματος PBM, δηλαδή την εκπαίδευση του προσωπικού, τη διενέργεια τακτικών και έκτακτων ανασκοπήσεων (audits) των πρακτικών μετάγγισης και την ενημέρωση όλων των εμπλεκόμενων στη μετάγγιση (γιατροί, νοσηλευτές, εργαστηριακό/κλινικό προσωπικό, διοίκηση) για τα αποτελέσματα των επιθεωρήσεων αυτών.^{39,40}

Τα εκπαιδευτικά προγράμματα που περιλαμβάνονται σε ένα πρόγραμμα PBM είναι σχεδιασμένα ώστε να απευθύνονται σε ένα ευρύ φάσμα επαγγελματιών υγείας: γιατρούς, νοσηλευτές, φαρμακοποιούς, τεχνολόγους. Έντυπο και ηλεκτρονικό υλικό, πρέπει να είναι διαθέσιμο σε προσωπικό όλων των βαθμίδων: φοιτητές, ειδικευόμενους και ειδικευμένους και πρέπει να ενθαρρύνεται η συμμετοχή τους σε τακτική βάση σε προγράμματα επιμόρφωσης που θα πιστοποιούν την εκπαίδευση σε θέματα PBM. Στο εκπαιδευτικό υλικό συγκαταλέγονται και λίστες πρότυπων διαδικασιών (standard operating procedures, SOPs), κατευθυντήριες γραμμές, κλινικά πρωτόκολλα για θέματα αιμοδοσίας (πχ. ενδείξεις μετάγγισης, πρωτόκολλα μαζικής μετάγγισης, πρωτόκολλα damage control surgery, λίστα μέγιστης αιτούμενη ποσότητα αίματος ανά είδος χειρουργικής επέμβασης [Maximum Surgical Order Schedule, MSBOS] ανάλογα με την αναμενόμενη απώλεια αίματος όπως αυτή διαμορφώνεται από τις τοπικές συνθήκες, αλγόριθμοι αιμορραγικού ελέγχου, αλγόριθμοι για εργαστηριακές διαδικασίες πχ ηλεκτρονική διασταύρωση (ομάδα αίματος και

έμμεση Coombs) αλγόριθμοι διερεύνησης λαθών στην αλυσίδα της μετάγγισης κ.α.).³⁷ Η ενημέρωση σε θέματα PBM γίνεται με τους κλασσικούς τρόπους (διαλέξεις σε μικρές ή μεγάλες ομάδες, ατομική εκπαίδευση με εξατομικευμένες συζητήσεις ή προγράμματα e-learning, συζήτηση και ανάλυση των λαθών στη διαδικασία της μετάγγισης, συμμετοχή των «ειδικών στη μετάγγιση» σε κλινικές συζητήσεις) ή μέσω ειδικών ηλεκτρονικών προγραμμάτων παραγγελίας (computerized physician order entry, CPOE) που ζητούν δικαιολόγηση από τον αιτούντα ιατρό της κάθε μετάγγισης που βρίσκεται εκτός ενδείξεων, εκπαιδευόντάς τον έτσι σε πραγματικό χρόνο για τις ενδείξεις της μετάγγισης.^{37,38} Η κάθε εκπαιδευτική παρέμβαση πρέπει να ελέγχεται ως προς την αποτελεσματικότητα της από εκπαιδευτές και εκπαιδευόμενους, ενώ η δυναμική της πρέπει να παραμένει με διαρκείς επαναλήψεις και διατήρηση σταθερής επικοινωνίας με τα μέλη της επιτροπής PBM.

Η επιθεώρηση και ανασκόπηση των πρακτικών μετάγγισης (audits), πρέπει να γίνεται σε τακτική βάση. Η διαδικασία αυτή γίνεται ηλεκτρονικά μέσω προγραμμάτων CPOE ή μέσω του συστήματος μηχανογράφησης του νοσοκομείου, είτε χειρόγραφα. Οι παράμετροι που ελέγχονται κατά τη διάρκεια της ανασκόπησης αφορούν στην καταγραφή των επεισοδίων μετάγγισης, του αριθμού ασκών ανά επεισόδιο μετάγγισης, σε κλινικά/εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών (π.χ. ύπαρξη αιμορραγίας, παράταση χρόνων πήξεως), αλλά και στον υπολογισμό ειδικών πηλίκων (π.χ. αιτούμενες μονάδες/χορηγημένες μονάδες, διασταυρωμένες μονάδες/χορηγημένες μονάδες) που καταδεικνύουν μέχρι ενός σημείου το βαθμό ορθότητας στη διαχείριση των αποθεμάτων αίματος. Η ανασκόπηση των πρακτικών μετάγγισης και η συγκριτική τους αξιολόγηση σκόπιμο είναι να γίνεται σε όλα τα επίπεδα: ανά κλινική, ανά ειδικότητα, ανά τομέα, ακόμη και ανά ιατρό, αφού με τον τρόπο αυτόν αναδεικνύονται οι αποκλίσεις από την ενδεδωμένη συμπεριφορά και δημιουργούνται οι προϋποθέσεις για λήψη ρυθμιστικών και βελτιωτικών μέτρων.^{37,38} Ενθαρρύνεται ακόμη και η συγκριτική αξιολόγηση μεταξύ νοσοκομείων, όταν αυτό είναι εφικτό, διότι έτσι τα νοσοκομεία κινητοποιούνται όλο και περισσότερο προς την κατεύθυνση της υιοθέτησης και εδραίωσης εφαρμογής προγραμμάτων ποιότητας.^{8,41}

Η λήψη βελτιωτικών μέτρων προϋποθέτει τη γνωστοποίηση σε όλα τα ενδιαφερόμενα μέρη των αποτελεσμάτων των τακτικών και έκτακτων ανασκοπήσεων (feedback). Η συστηματική ενημέρωση ευαισθητοποιεί όλους όσους εμπλέκονται στη μεταγγισιοθεραπεία, αυξάνει το αίσθημα ευθύνης για τήρηση και εφαρμο-

γή των σωστών πρακτικών και αποτελεί κίνητρο για συμμόρφωση προς όλα όσα προβλέπει το PBM.⁴²⁻⁴⁴

Από τα παραπάνω συνάγεται ότι το PBM είναι «εργαλείο» με το οποίο προσβλέπουμε στη βελτιστοποίηση του τρόπου αντιμετώπισης των ασθενών που είναι υποψήφιοι για αλλογενή μετάγγιση. Με το πρόγραμμα αυτό εξασφαλίζεται το ποιοτικά επιθυμητό αποτέλεσμα, με ταυτόχρονη μείωση των κινδύνων της μετάγγισης και ελαχιστοποίηση του κόστους.⁴⁵ Η εφαρμογή τέτοιων προγραμμάτων δεν είναι πάντα εύκολη: η έλλειψη προσωπικού, μέσων και υλικών πόρων, η ύπαρξη παγιωμένων λανθασμένων αντιλήψεων και η δυσκολία συμμόρφωσης προς τις νέες οδηγίες, αποτελούν σημαντικότερα προβλήματα για την καθιέρωσή τους.⁴⁶ Ωστόσο, τα αξιόλογα αποτελέσματά τους αποτελούν κίνητρο για τη μετατροπή των υπαρχόντων περιορισμών σε πρόκληση και ευκαιρία για βελτίωση στην ποιότητα των παρεχομένων υπηρεσιών υγείας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Pfuntner A, Wier LM, Stocks C. Most Frequent Procedures Performed in U.S. Hospitals, 2011: Statistical Brief #165. Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs [Internet]. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2006-2013.
- Whitaker BL, Hinkins S. The 2011 national blood collection and utilization survey report. <https://www.aabb.org/research/hemovigilance/bloodsurvey/Documents/11-nbcus-report.pdf>
- Frank SM, Savage WJ, Rothschild JA, Rivers RJ, Ness PM, Paul SL et al. Variability in blood and blood component utilization as assessed by an anesthesia information management system. *Anesthesiology* 2012;117:99-106.
- Carson JL, Grossman BJ, Kleinman S, Tinmouth AT, Marques MB, Fung MK et al; Clinical Transfusion Medicine Committee of the AABB. Red blood cell transfusion: a clinical practice guideline from the AABB*. *Ann Intern Med* 2012;157:49-58.
- Shander A, Fink A, Javidroozi M, Erhard J, Farmer SL, Corwin H, et al; International Consensus Conference on Transfusion Outcomes Group. Appropriateness of allogeneic red blood cell transfusion: the international consensus conference on transfusion outcomes. *Transfus Med Rev* 2011;25:232-246.
- Beattie WS, Karkouti K, Wijeyesundera DN, Tait G. Risk associated with preoperative anemia in noncardiac surgery: a single-center cohort study. *Anesthesiology* 2009;110:574-81.
- Greinacher A, Fendrich K, Brzenska R, Kiefel V, Hoffmann W. Implications of demographics on future blood supply: a population-based cross-sectional study. *Transfusion* 2011;51:702-709.
- Shander A, Hofmann A, Ozawa S, Theusinger OM, Gombotz H, Spahn DR. Activity-based costs of blood transfusions in surgical patients at four hospitals. *Transfusion* 2010;50:753-65.
- Fragoulakis V, Stamoulis K, Grouzi E, Maniadakis N. The cost of blood collection in Greece: an economic analysis. *Clin Ther* 2014;36:1028-1036.
- Shander A, Van Aken H, Colomina MJ, Gombotz H, Hofmann A, Krauspe R et al. Patient blood management in Europe. *British Journal of Anaesthesia* 2012;109: 55–68.
- <http://www.health.wa.gov.au/bloodmanagement/home>
- <http://hospital.blood.co.uk/patient-services/patient-blood-management/>
- Gombotz H. Patient Blood Management: A Patient-Orientated Approach to Blood Replacement with the Goal of Reducing Anemia, Blood Loss and the Need for Blood Transfusion in Elective Surgery. *Transfus Med Hemother* 2012;39:67-72.
- Guralnik JM, Eisenstaedt RS, Ferrucci L, Klein HG, Woodman RC. Prevalence of anemia in persons 65 years and older in the United States: evidence for a high rate of unexplained anemia. *Blood* 2004;104:2263-8.
- Tonelli M, Hemmelgarn B, Reiman T, Manns B, Reaume MN, Lloyd A et al. Benefits and harms of erythropoiesis-stimulating agents for anemia related to cancer: a meta-analysis. *CMAJ* 2009;180:E62-71.
- Kozek-Langenecker SA, Afshari A, Albaladejo P, Santulano CA, De Robertis E, Filipescu DC et al. Management of severe perioperative bleeding: guidelines from the European Society of Anaesthesiology. *Eur J Anaesthesiol* 2013;30:270-382.
- Carless PA, Henry DA, Moxey AJ, O'Connell D, Brown T, Fergusson DA. Cell salvage for minimising perioperative allogeneic blood transfusion. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;(4):CD001888.
- Kumar N, Chen Y, Zaw AS, Nayak D, Ahmed Q, Soong R et al. Use of intraoperative cell-salvage for autologous blood transfusions in metastatic spine tumour surgery: a systematic review. *Lancet Oncol* 2014;15:e33-41.
- Meybohm P, Zacharowski K, Weber CF. Point-of-care coagulation management in intensive care medicine. *Crit Care* 2013;17:218.
- Harber CR, Sosnowski KJ, Hegde RM. Highly conservative phlebotomy in adult intensive care-a prospective randomized controlled trial. *Anaesth Intensive Care* 2006;34:434-7.
- Sanchez-Giron F, Alvarez-Mora F. Reduction of blood loss from laboratory testing in hospitalised adult patients using small -volume (pediatric) tubes. *Arch Pathol Lab Med* 2008;132:1916-9.
- Macknet MR, Allard M, Applegate RL 2nd, Rook J. The accuracy of noninvasive and continuous total hemoglobin measurement by pulse CO-Oximetry in human subjects undergoing hemodilution. *Anesth Analg* 2010;111:1424-6.
- Barie PS, Hydo LJ. Lessons learned: durability and progress of a program for ancillary cost reduction in surgical critical care. *J Trauma* 1997;43:590-4 discussion 594-6.

24. Habler O, Meier J, Pape A, Kertscho H, Zwissler B. Tolerance to perioperative anemia. Mechanisms, influencing factors and limits. *Anaesthetist* 2006;55:1142-56.
25. Oliver JC, Griffin RL, Hannon T, Marques MB. The success of our patient blood management program depended on an institution-wide change in transfusion practices. *Transfusion* 2014;54:2617-24.
26. Theusinger OM, Kind SL, Seifert B, Borgeat L, Gerber C, Spahn DR. Patient blood management in orthopaedic surgery: a four-year follow-up of transfusion requirements and blood loss from 2008 to 2011 at the Balgrist University Hospital in Zurich, Switzerland. *Blood Transfus* 2014;12:195-203.
27. Leahy MF, Roberts H, Mukhtar SA, Farmer S, Tovey J, Jewlachow V et al; Western Australian Patient Blood Management Program. A pragmatic approach to embedding patient blood management in a tertiary hospital. *Transfusion* 2014;54:1133-45.
28. Padhi S, Kemmis-Betty S, Rajesh S, Hill J, Murphy MF; Guideline Development Group. Blood transfusion: summary of NICE guidance. *BMJ* 2015;351:h5832.
29. Society for the Advancement of Blood Management (SABM). <http://www.sabm.org>
30. Spahn DR, Goodnough LT. Alternatives to blood transfusion. *Lancet* 2013;381:1855-65.
31. Goodnough LT, Levy JH, Murphy MF. Concepts of blood transfusion in adults. *Lancet* 2013;381:1845-54.
32. Goodnough LT, Shieh L, Hadhazy E, Cheng N, Khari P, Maggio P. Improved blood utilization using real-time clinical decision support. *Transfusion* 2014;54:1358-65.
33. Muñoz M, Gómez-Ramírez S, Kozek-Langeneker S, Shander A, Richards T, Pavia J et al. 'Fit to fly': overcoming barriers to preoperative haemoglobin optimization in surgical patients. *Br J Anaesth* 2015;115:15-24.
34. Fischer DP, Zacharowski KD, Müller MM, Geisen C, Seifried E, Müller H et al. Patient blood management implementation strategies and their effect on physicians' risk perception, clinical knowledge and perioperative practice - the Frankfurt experience. *Transfus Med Hemother* 2015;42:91-7.
35. Mbanya D. Barriers and enablers to introducing comprehensive patient blood management in the hospital. *Biologicals* 2012;40:205-8.
36. Cabana MD, Rand CS, Powe NR, Wu AW, Wilson MH, Abboud PA et al. Why don't physicians follow clinical practice guidelines? A framework for improvement. *JAMA* 1999;282:1458-65.
37. Francis JJ, Stockton C, Eccles MP, Johnston M, Cuthbertson BH, Grimshaw JM et al. Evidence-based selection of theories for designing behaviour change interventions: using methods based on theoretical construct domains to understand clinicians' blood transfusion behaviour. *Br J Health Psychol* 2009;14:625-46.
38. Meybohm P, Richards T, Isbister J, Hofmann A, Shander A, Goodnough LT et al. Patient Blood Management Bundles to Facilitate Implementation. *Transfus Med Rev* 2016. pii: S0887-7963(16)30030-X. [Epub ahead of print].
39. Savage W. Implementing a blood utilization program to optimize transfusion practice. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2015;2015:444-7.
40. Markowitz MA, Waters JH, Ness PM. Patient blood management: a primary theme in transfusion medicine. *Transfusion* 2014;54:2587.
41. Building a Better Patient Blood Management Program Identifying Tools, Solving Problems and Promoting Patient Safety <http://www.aabb.org/pbm/Documents/AABB-PBM-Whitepaper.pdf>
42. Beaty CA, Haggerty KA, Moser MG, George TJ, Robinson CW, Arnaoutakis GJ et al. Disclosure of physician-specific behavior improves blood utilization protocol adherence in cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2013; 96:2168-74.
43. Friedman MT, Ebrahim A. Adequacy of physician documentation of red blood cell transfusion and correlation with assessment of transfusion appropriateness. *Arch Pathol Lab Med* 2006;130:474-9.
44. Tinmouth A, Macdougall L, Fergusson D, Amin M, Graham ID, Hebert PC et al. Reducing the amount of blood transfused: a systematic review of behavioral interventions to change physicians' transfusion practices. *Arch Intern Med* 2005;165:845-52.
45. Spahn DR, Theusinger OM, Hofmann A. Patient blood management is a win-win: a wake-up call. *Br J Anaesth* 2012;108:889-92.
46. Hasler S, Kleeman A, Abrams R, Kim J, Gupta M, Krause MK et al. Patient safety intervention to reduce unnecessary red blood cell utilization. *Am J Manag Care* 2016;22:295-300.

Μεταγγίσεις ερυθρών σε αιματολογικούς ασθενείς – Θεραπευτικοί στόχοι

ΜΑΡΙΝΑ ΚΑΡΑΚΑΝΤΖΑ

Consultant Haematologist in Transfusion Medicine, Leeds Teaching Hospitals και NHS Blood and Transplant

Στη σύγχρονη ιατρική, η απόφαση για μετάγγιση δεν στηρίζεται αποκλειστικά σε εργαστηριακές παραμέτρους ή κλινικά συμπτώματα αλλά είναι θεραπευτική απόφαση που λαμβάνει υπόψη τη συνολική κατάσταση του ασθενούς και στοχεύει στη βελτιστοποίηση της παρεχομένης περίθαλψης για κάθε συγκεκριμένο ασθενή εξατομικευμένα.

Η στρατηγική αυτή στην προσέγγιση της απόφασης για μετάγγιση είναι διεθνώς γνωστή ως “αντιμετώπιση ασθενούς που πιθανώς χρειάζεται μετάγγιση” (Patient Blood Management, PBM) και έχει αντικαταστήσει τις ενδείξεις για μετάγγιση των προηγούμενων στρατηγικών¹.

Κάθε κλινική απόφαση για μετάγγιση λαμβάνεται βάσει:

- των συμπτωμάτων του ασθενούς,
- την ύπαρξη εναλλακτικών θεραπειών,
- τα δεδομένα κλινικών μελετών,
- τον θεραπευτικό στόχο,
- την αποφυγή επιπλοκών από τη μετάγγιση
- την αποφυγή μη απαραίτητων μεταγγίσεων
- των αντιρροπιστικών μηχανισμών στην αναιμία που έχει αναπτύξει ο ασθενής

Κάθε κλινική απόφαση για μετάγγιση ερυθρών λαμβάνοντας υπόψη τις παραπάνω παραμέτρους πρέπει σαφώς να καθορίζει το επίπεδο Hb για μετάγγιση και τον θεραπευτικό στόχο. Η κλινική απόφαση πρέπει να τεκμηριώνεται σαφώς ως πλάνο μεταγγίσεων στο ιστορικό του ασθενούς.

Οι θεραπευτικοί στόχοι των μεταγγίσεων διαφέρουν μεταξύ ασθενών με οξεία αναιμία από αυτών με χρόνια αναιμία.

- Οι μεταγγίσεις σε ασθενείς με οξεία αναιμία στοχεύουν στην θεραπεία και πρόληψη σημαντικών συμπτωμάτων αναιμίας και την αποφυγή επιπλο-

κών από τις μεταγγίσεις που μπορεί να επηρεάζουν αρνητικά την έκβαση των ασθενών.

- Οι μεταγγίσεις σε ασθενείς με χρόνια αναιμία στοχεύουν στην πρόληψη σημαντικών συμπτωμάτων αναιμίας, αλλά κυρίως την αποφυγή μακροχρόνιων επιπλοκών από την ισχαιμία ζωτικών οργάνων λόγω της αναιμίας και την διατήρηση της ποιότητας ζωής των ασθενών ιδανικά σε επίπεδο που δεν διαταράσσει τις καθημερινές τους δραστηριότητες ενώ παράλληλα στοχεύει και στον περιορισμό των απώτερων επιπλοκών της μετάγγισης.

Η μεγάλη πρόκληση του PBM είναι πώς τα δεδομένα που προέρχονται από κλινικές μελέτες θα εξατομικευθούν για τον κάθε ασθενή.

Στη συνέχεια θα επικεντρωθούμε στα δεδομένα που στηρίζουν αποφάσεις για μετάγγιση με ερυθρά αιματολογικών ασθενών με αναστρέψιμα και επίκτητα μη αναστρέψιμα σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας. Στην εισήγηση αυτή δεν θα αναφερθούν τα δεδομένα για μεταγγίσεις ερυθρών σε ασθενείς με θαλασσαιμικά σύνδρομα και αιμοσφαιρινοπάθειες καθώς η προσέγγιση αυτών των ομάδων ασθενών είναι τελείως διαφορετική και χρήζει ειδικής εισήγησης.

Ορολογία

Patient Blood Management (PBM) = αντιμετώπιση ασθενούς που πιθανώς χρειάζεται μετάγγιση.

Triggers of transfusion (thresholds of transfusion) = η κατώτερη συγκέντρωση Hb στην οποία ο ασθενής δεν έχει κλινικά συμπτώματα αναιμίας².

Targets of transfusion=το επιθυμητό επίπεδο Hb.

Objectives of transfusion=θεραπευτικοί στόχοι των μεταγγίσεων.

Αναστρέψιμα σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας

Τα αναστρέψιμα σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας περιλαμβάνουν ασθενείς με πανκυτταροπενία μετά από χημειοθεραπεία ή ακτινοβολία και ασθενείς με διήθηση μυελού από αιματολογική κακοήθεια που αναμένεται να ανταποκριθεί σε θεραπεία.

Η αναιμία αυτών των ασθενών κατατάσσεται στην οξεία αναιμία διότι συμβαίνει για σύντομα επαναλαμβανόμενα διαστήματα κατά την διάρκεια της θεραπείας τους.

Η αναιμία ασθενών με χρόνια σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας υπό εντατική θεραπεία προσεγγίζεται με την ίδια στρατηγική για όσο χρόνο διαρκεί η εντατική θεραπεία.

Σύμφωνα με τις αρχές του PBM η κλινική απόφαση για μετάγγιση ασθενών με οξεία αναιμία που δεν αιμορραγούν πρέπει να βασίζεται σε βιβλιογραφικά δεδομένα τυχαίοποιημένων κλινικών μελετών που να καθορίζουν τη συγκέντρωση Hb (triggers or thresholds for transfusion) στην οποία οι ασθενείς δεν αναπτύσσουν συμπτώματα καρδιαγγειακής νόσου και έχουν την βέλτιστη έκβαση. Με την προσέγγιση αυτή οι ασθενείς λαμβάνουν την βέλτιστη θεραπεία, δεν υποβάλλονται σε μη απαραίτητες μεταγγίσεις και μπορούν να πληροφορηθούν με αντικειμενικό τρόπο για τα οφέλη και τους κινδύνους από τις μεταγγίσεις και να συναινέσουν με την καλύτερη δυνατή ενημέρωση για την θεραπεία τους.

Προ μετάγγισης συγκέντρωση Hb

Ασθενείς χωρίς ιστορικό ή συμπτώματα καρδιακής νόσου

Οι Herbert et al³ στην πρώτη τυχαίοποιημένη μελέτη στρατηγικών μετάγγισης που περιελάμβανε 838 ασθενείς μονάδων εντατικής θεραπείας έδειξαν ότι ασθενείς χωρίς ιστορικό ή συμπτώματα καρδιακής νόσου που μεταγγίζονταν σε συγκέντρωση Hb ≤ 70 g/L (restricted arm) είχαν σημαντικά υψηλότερο ποσοστό επιβίωσης και καλύτερη συνολική έκβαση από αυτούς που μεταγγίζονταν σε συγκέντρωση Hb ≤ 90 g/L (liberal arm).

Στα χρόνια που ακολούθησαν διεξήχθησαν πολλές τυχαίοποιημένες μελέτες με μεγάλο αριθμό χειρουργικών και μη χειρουργικών ασθενών που σύγκριναν την έκβαση των ασθενών που μεταγγίζονταν σε χαμηλή (restrictive) vs υψηλή (liberal) συγκέντρωση Hb. Συστηματική ανασκόπηση των μελετών αυτών που διεξήχθη το 2012 συμπεριέλαβε 19 τυχαίοποιημένες μελέτες⁴. Η Cochrane ανασκόπηση έδειξε ότι σε όλες τις ομάδες ασθενών μεταγγίσεις σε υψηλότερη συγκέ-

ντρωση Hb δεν ωφελούν τους ασθενείς και μπορεί και να τους επιβαρύνουν. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνονται και σε πιο πρόσφατη ανασκόπηση που συμπεριέλαβε συνολικά 31 τυχαίοποιημένες μελέτες και 9813 ασθενείς⁵.

Με βάση αυτά τα δεδομένα οι κατευθυντήριες οδηγίες για ασθενείς σε μονάδες εντατικής θεραπείας χωρίς ιστορικό ή συμπτώματα καρδιακής νόσου συνιστούν μεταγγίσεις σε συγκέντρωση Hb ≤ 70 g/L⁶.

Είναι εντυπωσιακό ότι ενώ οι ασθενείς με αναστρέψιμα σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας καταναλώνουν διεθνώς το ένα τέταρτο των μεταγγιζόμενων μονάδων ερυθρών δεν υπάρχουν τυχαίοποιημένες κλινικές μελέτες που να συγκρίνουν την έκβαση ασθενών που μεταγγίζονται σε διαφορετικά επίπεδα Hb. Μία μόνο μελέτη με μικρό αριθμό ασθενών που αφορούσε αιματολογικούς ασθενείς υπό χημειοθεραπεία ή μετά μεταμόσχευση συμπεριλήφθηκε στην Cochrane ανάλυση του 2012. Στην μελέτη αυτή δεν βρέθηκε διαφορά στην έκβαση των ασθενών που μεταγγίσθηκαν σε χαμηλά επίπεδα Hb σε σχέση με αυτούς που μεταγγίσθηκαν σε υψηλότερα επίπεδα Hb⁷.

Λόγω έλλειψης κλινικών μελετών που να παρέχουν δεδομένα για την καθοδήγηση της κλινικής πράξης σε αιματολογικούς ασθενείς με οξεία αναιμία οι ασθενείς αυτοί μεταγγίζονται με βάση τα δεδομένα που προέρχονται από ασθενείς σε μονάδες εντατικής θεραπείας.

Οι τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες του National Institute for Health and Care Excellence (NICE) του Ην. Βασιλείου συνιστούν για όλους τους ασθενείς με οξεία αναιμία συμπεριλαμβανομένων των αιματολογικών ασθενών που δεν αιμορραγούν και χωρίς ιστορικό ή συμπτώματα καρδιακής νόσου να μεταγγίζονται σε προ μετάγγισης συγκέντρωση Hb ≤ 70 g/L⁸.

Ασθενείς με ιστορικό ή συμπτώματα καρδιακής νόσου

Η μελέτη των Herbert et al³ έδειξε ότι ασθενείς με ιστορικό καρδιακής νόσου είχαν σημαντικά ευνοϊκότερη έκβαση όταν μεταγγίζονταν σε υψηλά επίπεδα συγκέντρωσης Hb (≤ 90 g/L) σε σχέση με αυτούς που μεταγγίζονταν σε χαμηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης Hb (≤ 70 g/L).

Οι Carson et al⁹ συνέκριναν δυο στρατηγικές μετάγγισης σε 2016 ασθενείς >50 ετών που υποβλήθηκαν σε προγραμματισμένη αντικατάσταση κεφαλής μηριαίου με ιστορικό καρδιακής νόσου. Στη μελέτη αυτή η συνολική επιβίωση την ημέρα 30 και 60 δεν διέφερε μεταξύ των ασθενών που μεταγγίσθηκαν σε υψηλή συγκέντρωση Hb (≤ 100 g/L) από αυτούς που μεταγγίσθηκαν σε χαμηλή συγκέντρωση Hb (≤ 80 g/L)

αν και στους ασθενείς της πρώτης ομάδας παρατηρήθηκαν λιγότερες συνολικά καρδιαγγειακές επιπλοκές και λιγότερα οξεία εμφράγματα του μυοκαρδίου.

Παρακολούθηση των ασθενών για 3 χρόνια έδειξε ότι ούτε η μακροχρόνια θνησιμότητα διέφερε μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών¹⁰.

Οι Cooper et al¹¹ σε μία μικρή τυχαίοποιημένη μελέτη που συμπεριέλαβε ασθενείς με οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου έδειξαν ότι η θνησιμότητα ήταν υψηλότερη σε ασθενείς που μεταγγίσθηκαν σε υψηλή προμετάγγισης συγκέντρωση Hb (≤ 100 g/L) σε σχέση με αυτούς που μεταγγίσθηκαν σε χαμηλή προμετάγγισης συγκέντρωση Hb (≤ 80 g/L). Η κύρια αιτία θανάτων στους ασθενείς της πρώτης ομάδας ήταν μη αντιρροπούμενη καρδιακή ανεπάρκεια.

Τα δεδομένα αυτά δεν επιβεβαιώθηκαν από πολυκεντρική μελέτη που ακολούθησε και έδειξε αντίθετα ότι η θνησιμότητα την ημέρα 30 ήταν σημαντικά υψηλότερη σε ασθενείς που μεταγγίσθηκαν σε συγκέντρωση Hb ≤ 80 g/L σε σχέση με αυτούς που μεταγγίσθηκαν σε συγκέντρωση Hb ≤ 100 g/L¹².

Βάση αυτών των δεδομένων οι τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες συνιστούν οι ασθενείς αυτοί να μεταγγίζονται σε συγκέντρωση Hb ≤ 80 g/L ενώ η Hb στόχος να κυμαίνεται από 90-100g/L^{6,8}.

Ασθενείς με σήψη

Οι British Committee for Standards in Haematology (BCSH) κατευθυντήριες οδηγίες του 2012 για μεταγγίσεις ερυθρών σε ασθενείς μονάδων εντατικής θεραπείας συνιστούν οι ασθενείς με πρώιμη σοβαρή σήψη ή ιστική υποξία να μεταγγίζονται με στόχο συγκέντρωση Hb μεταξύ 90-100g/L⁶.

Η σύσταση αυτή βασίζεται στα αποτελέσματα μιας μόνο τυχαίοποιημένης μελέτης που δεν στόχευε να συγκρίνει πρωτόκολλα μετάγγισης αλλά πρωτόκολλα πρώιμης παρέμβασης σε σχέση με την συνήθη θεραπεία στους ασθενείς αυτούς. Η μελέτη έδειξε ότι οι ασθενείς με σοβαρή σήψη και σηπτικό shock που αντιμετωπίστηκαν πρώιμα, μέσα σε 6 ώρες από την εμφάνιση των συμπτωμάτων, με πρωτόκολλα που στόχευαν στην υποστήριξη συστημάτων (early goal-directed therapy, EGDТ) είχαν χαμηλότερη θνησιμότητα σε σύγκριση με εκείνους που έλαβαν τη συνήθη φροντίδα. Ένας από τους στόχους αυτής της στρατηγικής ήταν να μεταγγίζονται οι ασθενείς με αιματοκρίτη στόχο 30% όταν ο φλεβικός κορεσμός O₂ (ScvO₂) ήταν $<70\%$ ¹³.

Η μοναδική τυχαίοποιημένη πολυκεντρική μελέτη που σχεδιάστηκε να συγκρίνει δύο στρατηγικές μετάγγισης σε ασθενείς μονάδων εντατικών θεραπειών

με σηπτικό shock συμπεριέλαβε 1005 ασθενείς και δεν έδειξε διαφορά στην θνησιμότητα ημέρα 90, στο ποσοστό καρδιακών επιπλοκών και στην διάρκεια μηχανικής υποστήριξης μεταξύ ασθενών που μεταγγίσθηκαν σε επίπεδο Hb ≤ 70 g/L σε σχέση με αυτούς που μεταγγίσθηκαν σε επίπεδο Hb ≤ 90 g/L¹⁴.

Βάση των δεδομένων αυτής της μελέτης¹⁴ οι πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες δεν διαχωρίζουν τους ασθενείς με σήψη από τις υπόλοιπες ομάδες ασθενών με οξεία αναιμία κατά συνέπεια οι ασθενείς αυτοί να μεταγγίζονται σε συγκέντρωση Hb ≤ 70 g/L εφόσον δεν έχουν ιστορικό ή συμπτώματα καρδιακής νόσου και σε συγκέντρωση Hb ≤ 80 g/L εφόσον δεν έχουν ιστορικό ή συμπτώματα καρδιακής νόσου⁸.

Ασθενείς με συμπτώματα από το κεντρικό νευρικό σύστημα

Δεν υπάρχουν συστηματικές κλινικές μελέτες για τη στρατηγική μεταγγίσεων σε παθολογικούς ασθενείς με νόσο του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ). Τα δεδομένα που υπάρχουν προέρχονται από μελέτες σε ασθενείς με κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις που νοσηλεύονται σε μονάδες εντατικής θεραπείας. Αν και τα συμπεράσματα αυτών των μελετών είναι δύσκολο να προβληθούν σε παθολογικούς ασθενείς με νόσο του ΚΝΣ, κάποια από τα δεδομένα αυτών των μελετών μπορούν να υποστηρίξουν τις αποφάσεις σε παθολογικούς ασθενείς.

Οι μελέτες σε ασθενείς με κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις έδειξαν ότι αν και οι μεταγγίσεις ερυθρών αυξάνουν την συγκέντρωση Hb στο περιφερικό αίμα, δεν αυξάνουν απαραίτητα και τη συγκέντρωση οξυγόνου στο ΚΝΣ. Τα περισσότερα δεδομένα δείχνουν ότι η συγκέντρωση οξυγόνου στο ΚΝΣ σχετίζεται καλύτερα με την συγκέντρωση οξυγόνου στο περιφερικό φλεβικό αίμα παρά με την συγκέντρωση Hb και προτείνουν ως κριτήριο για μετάγγιση τον κορεσμό του φλεβικού αίματος σε O₂ και όχι την Hb^{15,16}.

Μέχρι να υπάρχουν αρκετά δεδομένα που να κατευθύνουν την κλινική πράξη με βάση την συναίνεση των ειδικών οι ασθενείς με νόσο του ΚΝΣ μεταγγίζονται με Hb στόχο 100 g/L⁶.

Επίκτητη μη αναστρέψιμη σύνδρομο μυελικής ανεπάρκειας

Τα επίκτητη μη αναστρέψιμη σύνδρομο μυελικής ανεπάρκειας περιλαμβάνουν κυρίως ασθενείς με μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα και απλαστική αναιμία. Η αναιμία των ασθενών αυτών εφόσον δεν υποβάλλονται σε εντατική θεραπεία κατατάσσεται στις χρόνιες

αναιμίες και αντιμετωπίζεται ανάλογα.

Σύμφωνα με τις αρχές του PBM οι ασθενείς πρέπει να μεταγγίζονται βάσει εξατομικευμένων προγραμμάτων μετάγγισης. Η συγκέντρωση Hb που καθορίζεται για μετάγγιση για τον ασθενή πρέπει να είναι αυτή που τον απαλλάσσει από σημαντικά συμπτώματα αναιμίας, τον προφυλάσσει από ισχαιμικές επιπλοκές σε ζωτικά όργανα και βελτιώνει την ποιότητα ζωής του σε επίπεδο που ιδανικά να συνεχίζει απρόσκοπτα τις καθημερινές τους δραστηριότητες

Εναλλακτικές θεραπείες αναιμίας ασθενών με Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα

Στα αρχικά στάδια της νόσου η αναιμία σε ποσοστό ασθενών ανταποκρίνεται στις διαθέσιμες θεραπείες, συμπεριλαμβανομένων των παραγόντων διέγερσης της ερυθροποιητίνης (erythropoietin- stimulating agents, ESA), λεναλιδομίδης και αζασυτιδίνης.

Οι ESA είναι η πρώτη γραμμή θεραπείας της αναιμίας για τους ασθενείς χαμηλού κινδύνου¹⁷, με ποσοστά πλήρους και μερικής ανταπόκρισης 36.8% σε ομάδα καλής και ενδιάμεσης πρόγνωσης¹⁸. Για τους ασθενείς που επιτυγχάνουν πλήρη ύφεση η μέση διάρκεια της ανταπόκρισης στους ESA είναι 23 μήνες ενώ για αυτούς που επιτυγχάνουν μερική ύφεση μόλις 12 μήνες¹⁹.

Μελέτες με μακροχρόνια παρακολούθηση ασθενών με ΜΔΣ των οποίων η αναιμία αρχικά αντιμετωπίστηκε με αυξητικούς παράγοντες (ESA +/- G-CSF) έδειξαν ότι μόνο το 22% των ασθενών παραμένει σε μακροχρόνια πλήρη ύφεση και 17% σε μερική ύφεση. Κατά συνέπεια, το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών κατά την πορεία της νόσου τους αντιμετωπίζονται υποστηρικτικά και εξαρτώνται από μεταγγίσεις¹⁹.

Θεραπεία αναιμίας ασθενών με Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα με μεταγγίσεις

Οι πρόσφατες NICE κατευθυντήριες οδηγίες του Ην. Βασιλείου υιοθετούν τις αρχές του PBM και συνιστούν τον καθορισμό εξατομικευμένων προγραμμάτων μετάγγισης για μεταγγισοεξαρτούμενους ασθενείς με χρόνια αναιμία⁶.

Δεν υπάρχουν διεθνώς κατευθυντήριες οδηγίες για τα δεδομένα που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη για το σχεδιασμό εξατομικευμένων προγραμμάτων μετάγγισης. Η συναίνεση μεταξύ των ειδικών είναι ότι τα εξατομικευμένα προγράμματα μετάγγισης πρέπει να περιλαμβάνουν την προ-μετάγγιση συγκέντρωση Hb, την Hb στόχο, την συχνότητα των μεταγγίσεων, τις κλινικές παραμέτρους που δικαιολογούν την απόφαση

και τη μέθοδο παρακολούθησης του αποτελέσματος των μεταγγίσεων.

Προ μετάγγιση συγκέντρωση Hb

Ο σχεδιασμός εξατομικευμένων προγραμμάτων μετάγγισης σε ασθενείς με χρόνια αναιμία είναι μεγάλη πρόκληση για τους κλινικούς γιατρούς καθώς πρέπει να βασίζεται σε κλινικές μελέτες που συγκρίνουν διαφορετικές στρατηγικές μετάγγισης και αναλύουν τα δεδομένα χρησιμοποιώντας εκβάσεις (end-points) που να αφορούν αυτούς τους ασθενείς.

Πρόσφατη Cochrane ανασκόπηση τυχαιοποιημένων μελετών σε ασθενείς με ΜΔΣ και απλαστική αναιμία δεν εντόπισε δημοσιευμένες μελέτες που να συγκρίνουν διαφορετικές στρατηγικές μετάγγισης στους ασθενείς αυτούς. Μόνο μία μικρή τυχαιοποιημένη μελέτη (TEMPLE 2004) με 13 ασθενείς με ΜΔΣ που συνέκρινε μεταγγίσεις σε συγκέντρωση Hb ≤ 70 g/L vs Hb ≤ 90 g/L έχει δημοσιευθεί ως περιλήψη και τα δεδομένα είναι πολύ περιορισμένα για να συναχθούν συμπεράσματα²⁰.

Τρέχουσα πρακτική

Τα δεδομένα από το European MDS (EUMDS) registry δείχνουν ότι στις περισσότερες Ευρωπαϊκές χώρες οι ασθενείς αυτοί μεταγγίζονται σε συγκέντρωση Hb 80 g/L, αν και αυτό ποικίλει από χώρα σε χώρα.

Στο Ηνωμένο Βασίλειο δύο πρόσφατα audit παρέχουν δεδομένα για την πρακτική των μεταγγίσεων στην χώρα σε ασθενείς με ΜΔΣ. Ένα audit στην χρήση αίματος σε ασθενείς με μη χειρουργική αναιμία έδειξε ότι 610/635 ασθενείς με ΜΔΣ μεταγγίσθηκαν, σε μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης 82.4 g/L, SD13.0 (2012 Kate Pendry, προσωπική επικοινωνία). Σε πιο πρόσφατο audit στη χρήση αίματος σε αιματολογικούς ασθενείς 1637 με ΜΔΣ μεταγγίσθηκαν με μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης 81 g/L, (2016 Μαρίνα Καρακάντζα).

Προ μετάγγισης συγκέντρωση Hb και συνολική επιβίωση ασθενών με Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα

Οι Oliva et al.²² έδειξαν ότι ασθενείς με σημαντική αναιμία κατά την εμφάνιση της νόσου χωρίς ιστορικό καρδιακής νόσου έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα ανάπτυξης καρδιακών επιπλοκών κατά την πορεία της νόσου σε σχέση με ασθενείς με ήπια ή χωρίς αναιμία. Η διαφορά αυτή ήταν στατιστικά σημαντική σε συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης < 80 g/L για τις γυναίκες και < 90 g/L για τους άνδρες.

Οι Malcovati et al²³ έδειξαν ότι η σημαντική αναιμία σε ασθενείς με ΜΔΣ σχετίζεται με σημαντική αύξηση θανάτων από άλλα αίτια εκτός της νόσου και κυρίως από θανάτους οφειλόμενους σε καρδιακά αίτια. Η διαφορά αυτή και σε αυτή την μελέτη ήταν σημαντική σε συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης <80g/L για τις γυναίκες και <90 g/L για τους άνδρες.

Hb στόχος και ποιότητα ζωής σε ασθενείς με Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα

Σημαντικός θεραπευτικός στόχος για τους ασθενείς αυτούς είναι η βελτίωση της ποιότητας ζωής (ΠΖ) και η διατήρηση των καθημερινών δραστηριοτήτων των ασθενών. Μελέτες που αξιολογούν την βελτίωση της ποιότητας ζωής σε αυτούς τους ασθενείς είναι δύσκολες για τους παρακάτω λόγους

- Οι ασθενείς αυτοί είναι ηλικιωμένοι και συχνά δεν έχουν την πνευματική διαύγεια και μνήμη να συμπληρώσουν τα ερωτηματολόγια που αξιολογούν παραμέτρους ΠΖ.
- Τα ερωτηματολόγια που χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση των παραμέτρων ΠΖ είναι διαφορετικά στις διάφορες μελέτες και δεν είναι ειδικά για την νόσο.
- Το αίσθημα της κόπωσης που είναι η πιο συχνά αξιολογούμενη παράμετρος στα ερωτηματολόγια ΠΖ δεν είναι ειδικό σύμπτωμα της αναιμίας αλλά συχνά είναι συστηματικό σύμπτωμα της νόσου.

Μελέτες που χρησιμοποίησαν αξιόπιστα εργαλεία για την αξιολόγηση της ΠΖ έδειξαν ότι η αναιμία επηρεάζει δυσμενώς την συνολική ΠΖ και περιορίζει τις δραστηριότητες των ασθενών αυτών²⁴.

Μια σειρά από μελέτες που έχουν αξιολογήσει τις μεταβολές σε παραμέτρους ΠΖ σε ασθενείς με αναιμία στους οποίους χορηγήθηκαν ESA έδειξαν ότι η αύξηση της συγκέντρωσης της Hb βελτιώνει την ΠΖ αυτών των ασθενών. Οι ασθενείς που στις μελέτες αυτές πέτυχαν πλήρη ή μερική ύφεση με ESA είχαν σημαντική βελτίωση σε παραμέτρους ΠΖ που αξιολογούν σφαιρικά τη λειτουργικότητα των ασθενών και κυρίως στο αίσθημα της κόπωσης σε σύγκριση με αυτούς που δεν ανταποκρίνονται στην θεραπεία²⁵.

Οι Gabilove et al²⁶ έδειξαν ότι αύξηση της συγκέντρωσης Hb κατά 20g/L, με τη χρήση darbepoetin alfa βελτιώνει τις παραμέτρους ΠΖ όπως αυτές αξιολογούνται με την κλίμακα FACT-F. Οι Spiriti et al²⁷ και Buckstein R et al²⁸ έδειξαν ότι η μέγιστη βελτίωση επιτυγχάνεται σε συγκεντρώσεις Hb >100 g/L.

Βάσει αυτών των δεδομένων ο στόχος θεραπείας με ESA είναι η επίτευξη συγκέντρωσης Hb μεταξύ 100-120 g/L.

Αν η επίτευξη των ίδιων επιπέδων συγκέντρωσης Hb με μεταγγίσεις έχει το ίδιο αποτέλεσμα στην ΠΖ των ασθενών με αυτό που επιτυγχάνεται με την θεραπεία με ESA παραμένει αδιευκρίνιστο. Οι μεταγγίσεις έχουν διαφορετικά βιολογικά αποτελέσματα από τους ESA, σχετίζονται με άμεσες και απώτερες επιπλοκές, αλλά κυρίως απαιτούν συχνές επισκέψεις και μακρά παραμονή στο Νοσοκομείο.

Συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας έδειξε ότι υπάρχουν πολύ λίγες και με μικρό αριθμό ασθενών μελέτες που να αξιολογούν παραμέτρους ΠΖ σε μεταγγισιοεξαρτώμενους ασθενείς με ΜΔΣ²⁹.

Οι Oliva et al³⁰ και οι Buckstein et al³¹ αξιολογώντας παραμέτρους ΠΖ μεταγγισιοεξαρτώμενων ασθενών με διαφορετικά ερωτηματολόγια έδειξαν ότι οι μεταγγίσεις αποτελούν ανεξάρτητη παράμετρο από την αναιμία στην επιβάρυνση της ΠΖ των ασθενών.

Οι Jansen et al³² βρήκαν μέτρια συσχέτιση μεταξύ της αύξησης της συγκέντρωσης Hb και της ΠΖ μεταγγισιοεξαρτώμενων ασθενών.

Οι Nilsson Ehle et al³³ αξιολόγησε τις μεταβολές σε παραμέτρους ΠΖ χρησιμοποιώντας το ερωτηματολόγιο EORTC QLQ C-30, όταν η συγκέντρωση Hb αυξάνεται σε τουλάχιστον >120 g/L χρησιμοποιώντας ESA και/ή μεταγγίσεις συμπυκνωμένων ερυθρών. Η σωματική και κοινωνική λειτουργικότητα των ασθενών βελτιώθηκε σημαντικά ενώ η κόπωση και δύσπνοια μειώθηκαν σημαντικά σε όλους τους ασθενείς της μελέτης. Δεκατρείς ασθενείς στη μελέτη έλαβαν μεταγγίσεις εκτός από ESA και η πλειοψηφία ήταν σε θέση να μεταγγίζεται σε συγκέντρωση Hb >120 g/L. Τα αποτελέσματα στην υποομάδα αυτών των ασθενών δεν διέφεραν από αυτά των ασθενών που πέτυχαν τα ίδια επίπεδα Hb με θεραπεία αποκλειστικά με ESA. Μία σημαντική παρατήρηση της μελέτης ήταν ότι οι ασθενείς που ήταν μεταγγισιοεξαρτώμενοι κατά την έναρξη της μελέτης μετά από μικρό διάστημα εντατικών μεταγγίσεων διατηρούσαν Hb >120 g/L χωρίς αύξηση του αριθμού των μεταγγιζόμενων μονάδων ερυθρών και της συχνότητας μεταγγίσεων σε σχέση με το πριν τη μελέτη πρόγραμμα μεταγγίσεων.

Συμπερασματικά, οι αιματολογικοί ασθενείς με αναστρέψιμο σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας μεταγγίζονται με βάση τις υπάρχουσες κατευθυντήριες οδηγίες για ασθενείς με οξεία αναιμία. Τα δεδομένα όμως της τρέχουσας κλινικής πρακτικής προέρχονται από μελέτες σε άλλους πληθυσμούς ασθενών. Κλινικές μελέτες που να συγκρίνουν στρατηγικές μετάγγισης σε αιματολογικούς ασθενείς υπό χημειοθεραπεία ή μετά μεταμόσχευση θα προσδιορίσουν καλύτερα τη βέλτιστη πρακτική για αυτούς τους ασθενείς.

Οι ασθενείς με μη αναστρέψιμα σύνδρομα μυε-

λικής ανεπάρκειας μεταγγίζονται με εξατομικευμένα προγράμματα μετάγγισης. Περισσότερα δεδομένα για την υποστήριξη των κλινικών αποφάσεων στους ασθενείς αυτούς αναμένονται από τρεις τυχαioποιημένες κλινικές μελέτες που διεξάγονται διεθνώς και συγκρίνουν διαφορετικές στρατηγικές μετάγγισης αλλά και από μελέτες που στοχεύουν στον σχεδιασμό ειδικών εργαλείων για την παρακολούθηση της ΠΖ αυτών των ασθενών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. National Blood Transfusion Committee (2014) Patient Blood Management: An evidence based approach to patient care . <http://www.transfusionguidelines.org.uk/uk-transfusion-committees/national-blood-transfusion-committee/patient-blood-management>
2. British Committee for Standards in Haematology (BCSH) Guidelines for the clinical use of red cell transfusions. *Br J Haematol.* 2001; 13:24-31.
3. Hébert PC, Wells G, Blajchman MA, Marshall J, Martin C, Pagliarello G, et al. A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. Transfusion Requirements in Critical Care Investigators, Canadian Critical Care Trials Group. *N Engl J Med.* 1999; 340:409-417.
4. Carson JL, Carless PA, Hébert PC. Transfusion thresholds and other strategies for guiding allogeneic red blood cell transfusion. The Cochrane database of systematic reviews 4:CD002042, 2012.
5. Holst LB, Petersen MW, Haase N, Perner A, Wetterslev J. Restrictive versus liberal transfusion strategy for red blood cell transfusion: systematic review of randomised trials with meta-analysis and trial sequential analysis. Published online. *BMJ.* 2015;350:h1354.
6. Retter A, Wyncoll D, Pearse R, Carson D, McKechnie S, Stanworth S, et al. British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the management of anaemia and red cell transfusion in adult critically ill patients. *Br J Haematol.* 2013;160:445-464.
7. Webert KE, Cook RJ, Couban S, Carruthers J, Lee KA, Blajchman MA, et al. A multicenter pilot-randomized controlled trial of the feasibility of an augmented red blood cell transfusion strategy for patients treated with induction chemotherapy for acute leukemia or stem cell transplantation. *Transfusion.* 2008;48:81-91.
8. NICE guidelines on blood transfusions (2015) <https://www.nice.org.uk/guidance/ng24>
9. Carson JL, Terrin ML, Noveck H, Sanders DW, Chaitman BR, Rhoads GG et al; FOCUS Investigators. Liberal or restrictive transfusion in high-risk patients after hip surgery. *N Engl J Med.* 2011;365:2453-2462.
10. Carson JL, Sieber F, Cook DR, Hoover DR, Noveck H, Chaitman BR, et al. Liberal versus restrictive blood transfusion strategy: 3-year survival and cause of death results from the FOCUS randomised controlled trial. *Lancet.* 2015; 385:1183-1189.
11. Cooper HA, Rao SV, Greenberg MD, Rumsey MP, McKenzie M, Alcorn KW et al. Conservative versus liberal red cell transfusion in acute myocardial infarction (the CRIT Randomized Pilot Study). *Am J Cardiol.* 2011; 108:1108-1111.
12. Carson JL, Brooks MM, Abbott JD, Chaitman B, Kelsey SF, Triulzi DJ et al. Liberal versus restrictive transfusion thresholds for patients with symptomatic coronary artery disease. *Am Heart J.* 2013 ;165:964-971.
13. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med.* 2001;345:1368-1377.
14. Holst LB, Haase N, Wetterslev J, Wernerman J, Gut-tormsen AB, Karlsson S, et al. TRISS Trial Group; Scandinavian Critical Care Trials Group Lower versus higher hemoglobin threshold for transfusion in septic shock. *N Engl J Med.* 2014;371:1381-1391.
15. Surve RM, Muthuchellappan R, Rao GS, Philip M. The effect of blood transfusion on central venous oxygen saturation in critically ill patients admitted to a neuro-intensive care unit. *Transfus Med.* 2016. doi: 10.1111/tme.12332. [Epub ahead of print].
16. Lelubre C, Bouzat P, Crippa IA, Taccone FS. Anemia management after acute brain injury. *Crit Care.* 2016; 20: 152. Published online doi: 10.1186/s13054-016-1321-6.
17. Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D, Adès L, Cermak J, Del Cañizo C et al. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. *Blood.* 2013;122:2943–2964.
18. Italian Cooperative Study Group for rHuEpo in Myelodysplastic Syndromes, Ferrini PR, Grossi A, Vannucchi AM, Barosi G, Guarone R, Piva N, et al. A randomized double-blind placebo-controlled study with subcutaneous recombinant human erythropoietin in patients with low-risk myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol.* 1998;103:1070-1074.
19. Jadersten M, Montgomery SM, Dybedal I, Porwit-MacDonald A, Hellström-Lindberg E. Long-term outcome of treatment of anemia in MDS with erythropoietin and G-CSF. *Blood.* 2005; 106:803-811.
20. Gu Y, Estcourt LJ, Doree C, Hopewell S, Vyas P. Comparison of a restrictive versus liberal red cell transfusion policy for patients with myelodysplasia, aplastic anaemia, and other congenital bone marrow failure disorders. Published online *Cochrane Database Syst Rev.* 2015:CD011577.
21. de Swart L, Smith A, Fenaux P, Symeonidis A, Hellström-Lindberg E, Sanz G, et al. Management of 1000 patients with low- and intermediate-1 risk myelodysplastic syndromes in the European LeukemiaNet MDS Registry. *Leukemia Research.* 2011;35(Suppl. 1):S3.
22. Oliva EN, Schey C, Hutchings AS. A review of anemia as a cardiovascular risk factor in patients with myelodysplastic syndromes. *Am J Blood Res.* 2011;1:160-166.

23. Malcovati L, Della Porta MG, Strupp C, Ambaglio I, Kuendgen A, Nachtkamp K, et al. Impact of the degree of anemia on the outcome of patients with myelodysplastic syndrome and its integration into the WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS). *Haematologica*. 2011;96:1433-1440.
24. Hellström-Lindberg E, Gulbrandsen N, Lindberg G, Ahlgren T, Dahl IM, Dybedal I, et al. Scandinavian MDS Group. A validated decision model for treating the anaemia of myelodysplastic syndromes with erythropoietin + granulocyte colony-stimulating factor: significant effects on quality of life. *Br J Haematol*. 2003;120:1037-1046.
25. Stasi R, Abruzzese E, Lanzetta G, Terzoli E, Amadori S. Darbepoetin alfa for the treatment of anemic patients with low- and intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes. *Ann Oncol*. 2005;16:1921-1927.
26. Gabrilove J, Paquette R, Lyons RM, Mushtaq C, Sekeres MA, Tomita D et al. Phase 2, single-arm trial to evaluate the effectiveness of darbepoetin alfa for correcting anaemia in patients with myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol*. 2008;142:379-393.
27. Spiriti MA, Latagliata R, Niscola P, Cortelezzi A, Francesconi M, Ferrari D, et al. Impact of a new dosing regimen of epoetin alfa on quality of life and anemia in patients with low-risk myelodysplastic syndrome. *Annals of Hematology*. 2005;84:167-176.
28. Buckstein R, Prica A, Chodirker L, Zhu N, Nevill T, Leitch H, et al. P-116 Frailty is an independent prognostic marker for overall survival in MDS: Results of a Canadian MDS registry. *Leukemia Research*. 2013; 37(Suppl. 1):S76.
29. Pinchon DJ, Stanworth SJ, Doree C, Brunskill S, Norfolk DR. Quality of life and use of red cell transfusion in patients with myelodysplastic syndromes. A systematic review. *American Journal of Hematology*. 2009;84:671-677.
30. Oliva EN, Finelli C, Santini V, Poloni A, Liso V, Cilloni D, et al. Quality of life and physicians' perception in myelodysplastic syndromes. *Am J Blood Res*. 2012;2:136-147.
31. Buckstein R, Alibhai SM, Lam A, Mamedov A, Zhang L, Lee C, Thompson K, et al. The health-related quality of life of MDS patients is impaired and most predicted by transfusion dependence, hemoglobin and age. *Leukemia Research*. 2011; 35(Suppl. 1):S55-S56.
32. Jansen AJ, Essink-Bot ML, Beckers EA, Hop WC, Schipperus MR, Van Rhenen DJ. Quality of life measurement in patients with transfusion-dependent myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol*. 2003; 121:270-274.
33. Nilsson-Ehle H, Birgegård G, Samuelsson J, Antunovic P, Astermark J, Garelius H, et al. Quality of life, physical function and MRI T2* in elderly low-risk MDS patients treated to a haemoglobin level of ≥ 120 g/L with darbepoetin alfa \pm filgrastim or erythrocyte transfusions. *Eur J Haematol*. 2011;87:244-252.

Μετάγγιση αιμοπεταλίων στην υποπλαστικού τύπου θρομβοπενία - Θεραπευτικοί στόχοι

ΣΤΑΜΑΤΗΣ ΚΑΡΑΚΑΤΣΑΝΗΣ

Αιματολόγος, Ακαδημαϊκός Υπότροφος Γ' Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής ΕΚΠΑ, Αιματολογικό Τμήμα, ΓΝΝΘΑ «Η Σωτηρία»

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μετάγγιση αιμοπεταλίων αποτελεί βασικό συμπλήρωμα στην αντιμετώπιση ασθενών με υποπλαστικού τύπου θρομβοπενία, η οποία παρατηρείται κυρίως σε ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες. Παρά τις επιπλοκές που μπορεί να παρατηρηθούν μετά από τις μεταγγίσεις αιμοπεταλίων η χορήγησή τους έχει οδηγήσει σε μείωση των θανάτων που οφείλονται σε αιμορραγία λόγω θρομβοπενίας. Ωστόσο, η προφυλακτική τους χορήγηση σε βαριά θρομβοπενία, η χορήγηση αιμοπεταλίων πριν από επεμβατικές πράξεις με αυξημένο αιμορραγικό κίνδυνο (με σκοπό την πρόληψη της αυτόματης αιμορραγίας) ή η θεραπευτική τους χορήγηση (σε περιπτώσεις ενεργού αιμορραγίας) πρέπει να γίνεται με συγκεκριμένα κριτήρια, ενώ επικουρικά μπορούν να δράσουν και άλλοι φαρμακευτικοί παράγοντες. Νεότερες ex-vivo μέθοδοι οδηγούν σε ασφαλέστερα παράγωγα με πιθανώς παρόμοια αποτελεσματικότητα, αλλά σημαντικό πρόβλημα εξακολουθεί να αποτελεί η ανάπτυξη ανθεκτικότητας στις μεταγγίσεις αιμοπεταλίων.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα αιμοπετάλια (Platelets, PLTs) αποτελούν τον κυτταρικό παράγοντα στη διαδικασία της αιμόστασης, παρέχοντας την επιφάνεια στην οποία προσδένονται και ενεργοποιούνται οι παράγοντες πήξης αλλά και εκκρίνοντας κοκκία με προθρομβωτικές ιδιότητες. Στους θρομβοπενικούς ασθενείς επομένως υπάρχει διαταραχή του πηκτικού μηχανισμού και κίνδυνος

εμφάνισης αιμορραγικών επεισοδίων και οι ασθενείς αυτοί αντιμετωπίζονται συχνά με μετάγγιση PLTs, ανάλογα με συγκεκριμένες ενδείξεις.

Ωστόσο οι μεταγγίσεις PLTs συμπεριλαμβάνουν βιολογικά δραστικά ουσίες, η χορήγηση των οποίων στον ανθρώπινο οργανισμό ενέχει κινδύνους¹. Τόσο τα PLTs που προέρχονται από πρόσφατο ολικό αίμα τυχαίων δοτών όσο και τα PLTs αφαίρεσης περιέχουν λευκά αιμοσφαίρια (White Blood Cells, WBCs) τα οποία και συλλέγονται παράλληλα. Τα τελευταία μπορούν να προκαλέσουν πυρετική μη αιμολυτική αντίδραση (Febrile Non-Hemolytic Transfusion Reaction, FNHTR), αλλοανοσοποίηση και ανθεκτικότητα στη μετάγγιση PLTs, λοίμωξη από ενδοκυττάριους μικροοργανισμούς και σχετιζόμενη με μετάγγιση νόσο μοσχεύματος κατά ξενιστή (transfusion-associated Graft-Versus-Host Disease, ta-GVHD). Η ανάπτυξη αλλοαντισωμάτων κατά αντιγόνων των PLTs (Human Platelet Antigens, HPA) μπορεί να προκαλέσει πορφύρα μετά από μετάγγιση ή να οδηγήσει επίσης σε ανθεκτικότητα στις μεταγγίσεις PLTs.

Τα PLTs ακόμα περιέχουν πλάσμα, τα συστατικά του οποίου μπορούν να οδηγήσουν σε σχετιζόμενη με μετάγγιση οξεία πνευμονική βλάβη (Transfusion-Related Acute Lung Injury, TRALI) και αναφυλακτικές ή αναφυλακτοειδείς αντιδράσεις. Επίσης τα PLTs περιέχουν και μικρό αριθμό ερυθρών αιμοσφαιρίων (Red Blood Cells, RBCs) τα οποία και εκφράζουν στην επιφάνειά τους αντιγόνα του συστήματος Rhesus (Rh). Αυτά είναι πολύ λιγότερα στα PLTs αφαίρεσης από ότι στα PLTs που προέρχονται από πρόσφατο ολικό αίμα τυχαίων δοτών, αλλά γενικά αποφεύγεται η

χορήγηση PLTs από Rh+ δότες σε Rh- γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας λόγω του πιθανού κινδύνου της Rh αλλοανοσοποίησης και επακόλουθης αιμολυτικής νόσου του νεογνού.

Ακόμα, υπάρχει αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης βακτηριών σε θερμοκρασία δωματίου στην οποία και φυλάσσονται τα PLTs. Γι' αυτό το λόγο και η διάρκεια φύλαξής τους είναι μόλις 5 ημέρες, γεγονός που τα καθιστά και περισσότερο δυσεύρετα. Λόγω της παγκοσμιοποίησης εξάλλου αναδύονται συνεχώς καινούριοι παθογόνοι μικροοργανισμοί. Μελέτες επίσης συνδέουν τη μετάγγιση PLTs με την εμφάνιση θρομβωτικών επιπλοκών². Τέλος, οι ασθενείς που χρειάζονται συχνότερα μεταγγίσεις είναι πλέον εκείνοι με αιματολογικές κακόηθεις και συμπαγείς όγκους, οι οποίοι και συνήθως χρειάζονται πολλαπλές μεταγγίσεις παραγώγων αίματος (συμπεριλαμβανομένων και PLTs), αυξάνοντας αθροιστικά τον κίνδυνο εμφάνισης επιπλοκών. Οι ίδιοι αυτοί ασθενείς εξάλλου είναι σε γενικές γραμμές εύθραυστοι, ανοσοκατεσταλμένοι, με σοβαρή συννοσηρότητα και προφανώς επιρρεπείς σε αιμορραγία.

Ενδείξεις χορήγησης PLTs

Η δυνατότητα χορήγησης PLTs σε διάφορες ομάδες ασθενών έχει οδηγήσει σε μία σαφή μείωση των θανάτων που οφείλονται σε αιμορραγία λόγω θρομβοπενίας.³ Η πλέον συχνή αιτία χορήγησης PLTs σε αιματολογικούς ασθενείς (69% των μεταγγιζόμενων PLTs) είναι η προφυλακτική τους χορήγηση σε βαριά θρομβοπενία, ενώ σε μικρότερο βαθμό χορηγούνται πριν από επεμβατικές πράξεις με αυξημένο αιμορραγικό κίνδυνο (με σκοπό την πρόληψη της αυτόματης αιμορραγίας) ή θεραπευτικά (σε περιπτώσεις ενεργού αιμορραγίας).⁴

Οδηγίες για τη χορήγηση PLTs σε ασθενείς με κακοήθεια και θρομβοπενία έχουν εκδοθεί από 15/ετίας, ωστόσο με χαμηλή ποιότητα αποδεικτικών στοιχείων (level of evidence) και ως εκ τούτου με όχι και τόσο υψηλό βαθμό σύστασης (grade of recommendation)⁵, κάτι για το οποίο ακόμα και σήμερα συνεχίζονται οι ερευνητικές μελέτες και προσπάθειες. Απόλυτη ένδειξη μετάγγισης PLTs είναι η βαριά θρομβοπενία σε συνδυασμό με κλινικά σημαντική αιμορραγία.⁶ Σε αυτές τις περιπτώσεις η μετάγγιση αιμοπεταλίων πρέπει να γίνεται άμεσα και με στόχο τη διατήρηση του αριθμού των PLTs >50.000/μl ή >100.000/μl σε περίπτωση διάχυτης ενδαγγειακής πήξης (ΔΕΠ) ή αιμορραγίας στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) ή στον αμφιβληστροειδή. Όλες οι άλλες ενδείξεις μετάγγισης είναι περισσότερο ή λιγότερο σχετικές και

εξαρτώνται από την κλινική κατάσταση του ασθενή, λαμβάνοντας υπ' όψιν παράγοντες όπως το μηχανισμό της θρομβοπενίας, την ύπαρξη πυρετού, λοίμωξης ή φλεγμονής, άλλες διαταραχές της αιμόστασης όπως συγγενείς ή επίκτητες διαταραχές της λειτουργικότητας των PLTs και την τρέχουσα φαρμακευτική αγωγή.

Προφυλακτική χορήγηση

Όσον αφορά την προφυλακτική χορήγηση PLTs, η σχέση μεταξύ της βαρύτητας της θρομβοπενίας, την πρόβλεψη πιθανής αιμορραγίας και το ρόλο των μεταγγίσεων PLTs στην πρόληψή της παραμένει ασαφής. Είναι χαρακτηριστικό ότι ακόμα και τα ποσοστά θρομβοπενικών ασθενών με αιμορραγία μεταξύ των διαφόρων κλινικών μελετών διαφέρουν εξαιρετικά μεταξύ τους λόγω των διαφορετικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται για την καταγραφή του είδους και της βαρύτητας της αιμορραγίας και σε τυχαίοποιημένες κλινικές μελέτες (Randomized Controlled Trials, RCTs) αυτά κυμαίνονται από 5% έως 70%. Επιπλέον, αυτές οι μελέτες διέφεραν και σε άλλα στοιχεία, όπως τον ουδό μετάγγισης PLTs ή τη δόση και το είδος των μεταγγιζόμενων PLTs⁷. Διάφορες προσεγγίσεις έχουν γίνει σε μια προσπάθεια να ελαχιστοποιηθούν αυτά τα συστηματικά σφάλματα, όπως η χρήση ενός τυποποιημένου εργαλείου για την καταγραφή της αιμορραγίας ή τη διαβάθμισή της, ή η ειδική εκπαίδευση του υπεύθυνου προσωπικού.

Στην προοπτική μελέτη ισοδυναμίας (μη κατωτέρωτης) TOPPS⁸ (Trial of Prophylactic vs. No-Prophylactic Platelet Transfusions in Patients with Hematological Malignancies) φάνηκε ότι η μη προφυλακτική χορήγηση PLTs σχετίζεται με χειρότερα κλινικά αποτελέσματα σε σύγκριση με την προφυλακτική χορήγηση, καθώς, αν και δε σημειώθηκε κανένας θάνατος στα δύο σκέλη της μελέτης και ο χρόνος μέχρι την αποκατάσταση του αριθμού των PLTs ήταν ο ίδιος, η χορήγηση PLTs οδήγησε σε λιγότερες μεταγγίσεις μονάδων συμπυκνωμένων ερυθρών (ΜΣΕ), μεγαλύτερο χρονικό διάστημα μέχρι την εμφάνιση κλινικά σημαντικής αιμορραγίας και σε μικρότερη διάρκεια αυτής, ειδικά σε ασθενείς υπό χημειοθεραπεία (ΧΜΘ), σε σύγκριση με εκείνους που υποβλήθηκαν σε αυτόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων.

Στην επικαιροποίηση της μελέτης TOPPS⁹ επαληθεύτηκαν τα παραπάνω αποτελέσματα, ενώ η συχνότητα αιμορραγικών εκδηλώσεων ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη στις γυναίκες ασθενείς, η διάρκεια της θρομβοπενίας και η ανάγκη μετάγγισης ΜΣΕ τις προηγούμενες 3 ημέρες. Βρέθηκε επίσης στα-

τιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της υψηλότερης θερμοκρασίας του ασθενή και αυξημένου κινδύνου σοβαρής αιμορραγίας: ασθενείς με θερμοκρασία $\geq 38^\circ\text{C}$ είχαν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο κίνδυνο να αιμορραγήσουν από εκείνους με θερμοκρασία $< 37,5^\circ\text{C}$.

Γεγονός παραμένει ότι ακόμα δεν υπάρχουν συγκεκριμένες διαγνωστικές δοκιμασίες οι οποίες να μπορούν να προσδιορίσουν με ακρίβεια την πιθανότητα αυτόματης αιμορραγίας σε θρομβοπενικούς ασθενείς. Ωστόσο η αιμορραγία σε ασθενείς που λαμβάνουν ΧΜΘ για συμπαγείς όγκους ή αιματολογικές κακοήθειες είναι πιο πιθανή όταν ο αριθμός των PLTs είναι $< 5.000/\mu\text{lt}$, όπως φάνηκε και στη μελέτη των Slichter και συν.¹⁰ ή $< 10.000/\mu\text{lt}$, στη μελέτη των Stanworth και συν.⁸ και στη μετα-ανάλυση των Estcourt και συν.¹¹, που περιελάμβαναν ασθενείς μόνο με αιματολογική κακοήθεια.

Άλλοι παράγοντες που λαμβάνονται υπ' όψιν είναι ο αριθμός των PLTs σε προηγούμενη αιμορραγία, η αιμορραγία από βλεννογόνους και η επίσταξη (ενδεικτικές αυξημένης βαρύτητας αιμορραγίας, σε αντίθεση με την εμφάνιση πετεχειών και εκχυμώσεων), η παρουσία πυρετού, λοίμωξης ή φλεγμονής και το υποκείμενο αίτιο θρομβοπενίας. Για παράδειγμα, μερικοί ασθενείς με αυτοάνοση θρομβοπενία (Immune Thrombocytopenia, ITP) συχνά ανέχονται πολύ χαμηλές τιμές PLTs χωρίς αιμορραγία, ενώ ασθενείς με οξεία λευχαιμία και διαταραχές της πήξης (π.χ., οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία) μπορεί να αιμορραγήσουν και με υψηλότερο αριθμό PLTs (30.000 έως 50.000/ μlt). Επί εμπυρέτου, σήψης ή σε οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία (ΟΠΛ) ή ακόμα και σε συμπαγείς όγκους με τουλάχιστον θεωρητικά υψηλότερο κίνδυνο αιμορραγίας (καρκίνος ουροδόχου κύστης, νεκρωτικοί όγκοι) από τον σε γενικές γραμμές χαμηλό κίνδυνο που χαρακτηρίζει τους ασθενείς με συμπαγείς όγκους¹⁰, ο ουδός μετάγγισης είναι υψηλότερος. Συγκεκριμένα, στους ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία (ΟΜΛ), η μετάγγιση PLTs προτείνεται αν PLTs $< 10.000/\mu\text{lt}$ ή επί σοβαρής αιμορραγίας (τουλάχιστον 2^{ου} βαθμού σύμφωνα με την ταξινόμηση του ΠΟΥ), ενώ σε ασθενείς με ΟΠΛ (στους οποίους συνυπάρχουν και διαταραχές του μηχανισμού της πήξης, οι οποίες και προδιαθέτουν σε ΔΕΠ και διάχυτη αιμορραγία) ο ουδός μετάγγισης είναι υψηλότερος (30.000 με 50.000/ μlt) και κάθε αιμορραγικό σημείο πρέπει να αντιμετωπίζεται με άμεση μετάγγιση PLTs. Τέλος, μετά από αυτόλογη ή αλλογενή μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων χρησιμοποιείται ως ουδός μετάγγισης PLTs ένας αριθμός PLTs $< 10.000/\mu\text{lt}$ και κάθε σοβαρή

αιμορραγία¹².

Σε ασθενείς με ηπατική νόσο ή ΔΕΠ συνυπάρχουν πολύπλοκες διαταραχές, τόσο προθρομβωτικές όσο και αντιθρομβωτικές, σε συνδυασμό με θρομβοπενία. Μεταγγίσεις PLTs συστήνονται μόνο επί αιμορραγίας ή πριν από επεμβατικές πράξεις.

Βέλτιστη χορηγούμενη δόση

Φαίνεται ότι προφυλακτική χορήγηση PLTs μπορεί να γίνει ακόμα και με χαμηλή δόση ($1,1 \times 10^{11}$ PLTs/ m^2 επιφάνειας σώματος vs standard δόσης των $2,2 \times 10^{11}$ PLTs/ m^2 επιφάνειας σώματος). Στη μελέτη των Slichter και συν.¹⁰ δε φάνηκε να υπάρχει καμία στατιστικά σημαντική διαφορά τόσο στο πρωτεύον (1 ή περισσότερα σοβαρά αιμορραγικά επεισόδια) όσο και στα δευτερεύοντα (υψηλότερος βαθμός αιμορραγίας, αιμορραγικός θάνατος, διάρκεια σοβαρής αιμορραγίας, ημέρες μέχρι την έναρξη σοβαρής αιμορραγίας, μεταγγίσεις ΜΣΕ) καταληκτικά σημεία, ανάμεσα στις ομάδες των ασθενών που μεταγγίστηκαν με PLTs με διαφορετικά δοσολογικά σχήματα. Το παραπάνω εύρημα επιβεβαιώθηκε και στη μετα-ανάλυση των Estcourt και συν.¹², στην οποία η χαμηλή δόση PLTs δε διέφερε με στατιστικά σημαντικό τρόπο από την καθιερωμένη δόση όσον αφορά τις κλινικά σημαντικές αιμορραγίες και την αιμορραγία 4^{ου} βαθμού κατά WHO.

Χορήγηση PLTs πριν από επεμβατικές πράξεις

Προληπτικά, πριν από επεμβατικές πράξεις με αυξημένο αιμορραγικό κίνδυνο, προτείνεται από ειδικούς η μετάγγιση PLTs ώστε ο αριθμός των PLTs να ξεπερνά ένα συγκεκριμένο όριο, το οποίο και ανάλογα με το συγγραφέα διαφέρει. Ενδεικτικά αναφέρονται τα παρακάτω όρια πάνω από τα οποία η επέμβαση θεωρείται ασφαλής παρά την παρούσα θρομβοπενία^{5,6,13}:

- νευροχειρουργική ή οφθαλμολογική επέμβαση - 100.000/ μlt
- άλλο μείζον χειρουργείο - 50.000/ μlt
- ενδοσκοπήσεις - 50.000/ μlt όταν γίνονται για θεραπευτικούς λόγους και 20.000/ μlt για χαμηλού κινδύνου διαγνωστικούς λόγους
- τοποθέτηση κεντρικής γραμμής - 20.000/ μlt
- οσφυονωτιαία παρακέντηση - 10.000 με 20.000/ μlt σε ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες και > 40.000 με 50.000/ μlt στους υπόλοιπους ασθενείς (ίσως λιγότερο σε ασθενείς με ITP)
- επισκληρίδιος αναισθησία - 50.000 με 80.000/ μlt
- ορθοπεδικές επεμβάσεις - 80.000/ μlt
- εξαγωγή οδόντος - 20.000/ μlt .

Η διενέργεια οστεομελικής βιοψίας μπορεί να διενεργηθεί με οποιαδήποτε τιμή PLTs, με μόνη αντένδειξη ίσως την παρουσία ΔΕΠ⁵.

Επιπρόσθετοι θεραπευτικοί χειρισμοί πρόληψης αιμορραγικού επεισοδίου σε ασθενείς με υποπλαστικού τύπου θρομβοπενία

Ακόμα και με τις προφυλακτικές μεταγγίσεις PLTs ο κίνδυνος αιμορραγίας παραμένει. Έτσι, από την Αμερικάνικη Ένωση Τραπεζών Αίματος (American Association of Blood Banks, AABB) συστήνεται και η λήψη επιπρόσθετων προφυλακτικών μέτρων, όπως η χορήγηση αντιπινωδολυτικής θεραπείας¹. Η χορήγηση ε-αμινοκαπρικού οξέος (Epsilon AminoCaproic Acid, EACA), ενός συνθετικού αναλόγου του αμινοξέος λυσίνη που δρα αναστέλλοντας την ινωδογονόλυση και σταθεροποιώντας το σχηματισμό θρόμβου ενώ έχει και δράση αντιπλάσμινης σε μικρότερο βαθμό¹⁴, έχει βρεθεί να συμβάλει τόσο στην πρόληψη αιμορραγικών συμβαμάτων σε θρομβοπενικούς ασθενείς¹⁵ όσο και στην αντιμετώπισή τους.¹⁶ Το EACA είναι καλώς ανεκτό και οδηγεί σε ταχεία και σημαντική μείωση των αιμορραγιών στους θρομβοπενικούς ασθενείς καθώς και σε μείωση του αριθμού των μεταγγιζόμενων ΜΣΕ.^{15,16} Αυτή τη στιγμή η φάσεως II μελέτη PROBLEMA (Prevention Of Bleeding in Hematological Malignancies With Antifibrinolytic, NCT02074436) συγκεντρώνει θρομβοπενικούς ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες στους οποίους θα συγκριθεί η αποτελεσματικότητα χορήγησης EACA με τη μετάγγιση PLTs στην πρόληψη αιμορραγιών.¹⁷ Παρόμοια αποτελέσματα στην πρόληψη αλλά όχι στην αντιμετώπιση των αιμορραγιών λόγω θρομβοπενίας έχει και η χορήγηση τρανεξαμικού οξέος, ενός ακόμα αντιπινωδολυτικού παράγοντα^{18,19}, ενώ ως επιπρόσθετοι χειρισμοί για την πρόληψη των αιμορραγικών επεισοδίων έχουν περιγραφεί επίσης η χορήγηση κορτικοστεροειδών, οιστρογόνων, δεσμοπρεσσίνης (DDAVP), ανασυνδυασμένου παράγοντα VIIa ή θρομβοποιητικών αυξητικών παραγόντων.²⁰⁻²³ Τέλος, από μία πρόσφατη μελέτη φαίνεται ότι η διαπίδυση των λευκών αιμοσφαιρίων μέσω του αγγειακού τοιχώματος στα σημεία φλεγμονής αυξάνει τον αιμορραγικό κίνδυνο σε θρομβοπενικούς ασθενείς οπότε και προτείνεται η στοχευμένη φαρμακευτική παρέμβαση σε αυτόν τον μηχανισμό ως τρόπος πρόληψης των αιμορραγικών συμβαμάτων, τουλάχιστον στη συγκεκριμένη κατηγορία ασθενών.²⁴ Η μεγαλύτερη όμως καινοτομία στη μετάγγιση PLTs τονίζεται ότι θα ήταν η ανακάλυψη νέων, αποτελεσματικών ΧΜΘ φαρμάκων που δε θα προκαλούσαν σοβαρή θρομβοπενία και δε θα

απαιτούσαν υποστηρικτική αγωγή με χορήγηση PLTs.

Θεραπευτική χορήγηση

Η δόση και η συχνότητα χορήγησης των μεταγγίσεων εξαρτάται από τον αρχικό αριθμό PLTs και τη βαρύτητα της αιμορραγίας. Η τελευταία βαθμολογείται σύμφωνα με την κλίμακα του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ), η οποία ωστόσο δε θεωρείται ιδιαίτερα λεπτομερής, αν και χρησιμοποιείται κατά κόρον στις κλινικές μελέτες που αφορούν τις μεταγγίσεις PLTs και τη βιβλιογραφία⁷:

- βαθμός 0 = απουσία αιμορραγίας.
- βαθμός 1 [ελάσσων αιμορραγία] = πετέχειες/εκχυμώσεις, λανθάνουσα αιμορραγία σωματικών εκκρίσεων (ίχνη έως 1+), ήπια κοιλιακή αιμορραγία, επίσταξη ή στοματοφαρυγγική αιμορραγία διάρκειας 1 ώρας, αιμορραγία αμφιβληστροειδούς χωρίς απώλεια όρασης.
- βαθμός 2 [ήπια αιμορραγία] = στοιχεία μεγάλης αιμορραγίας που όμως δεν απαιτεί μετάγγιση ερυθρών αιμοσφαιρίων (αιματοουρία, αιματέμεση, μέλαινα, αιματοχεσία, αιμόπτυση), επίσταξη ή στοματοφαρυγγική αιμορραγία διάρκειας >1 ώρας, ήπια κοιλιακή αιμορραγία, αιμορραγία σωματικών εκκρίσεων (μέτρια έως >2+).
- βαθμός 3 [μείζων αιμορραγία] = αιματοουρία, αιματέμεση, μέλαινα, αιματοχεσία, αιμόπτυση, ρινορραγία ή στοματοφαρυγγική αιμορραγία, κοιλιακή αιμορραγία, όταν απαιτείται μετάγγιση μιας ή περισσότερων ΜΣΕ/ημέρα, αιμορραγία κεντρικού νευρικού συστήματος (αναδεικνυόμενη με αξονική τομογραφία) χωρίς νευρολογικές κλινικές συνέπειες.
- βαθμός 4 = απειλούσα τη ζωή μαζική αιμορραγία που οδηγεί σε αιμοδυναμική αστάθεια ή αιμορραγία σε ζωτικά όργανα (π.χ. εγκεφαλική αιμορραγία με νευρολογικά σημεία και συμπτώματα, περικαρδιακή ή πνευμονική αιμορραγία, αιμορραγία αμφιβληστροειδούς με μείωση όρασης).

Αιμορραγίες βαθμού 0 και 1 συνήθως αποδίδονται στο βαθμό θρομβοπενίας, ενώ αιμορραγίες βαθμού 3 και 4 συνήθως συσχετίζονται και με συνυπάρχοντες παράγοντες, όπως φάρμακα, υποκείμενη νόσο (π.χ. ουραιμία), αντιπηκτικά, ανεπάρκεια παραγόντων πήξης ή ρήξη της ακεραιότητας του αγγειακού συστήματος (π.χ. νεκρωτικοί όγκοι). Έτσι, λόγω της συμμετοχής των παραπάνω παραγόντων στην αιμορραγία, δεν είναι περίεργο η μετάγγιση PLTs να μην προλαμβάνει ή να μην ελέγχει όλες τις αιμορραγίες στους θρομβοπενικούς ασθενείς.

Σημειώνεται ότι για τη σαφέστερη και λεπτομερέ-

στερη καταγραφή των αιμορραγικών εκδηλώσεων σε θρομβοπενικούς ασθενείς λόγω μυελοκαταστολής έχει προταθεί ένα διαφορετικό σύστημα ταξινόμησης από αυτό του ΠΟΥ²⁵, η χρήση του οποίου θα μπορούσε μελλοντικά να επεκταθεί και στις υπόλοιπες κατηγορίες ασθενών με αιμορραγικά συμβάματα.

Αδρανοποιημένα παράγωγα

Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί διάφορες τεχνικές αδρανοποίησης παθογόνων μικροοργανισμών. Η πλέον διαδεδομένη είναι το σύστημα INTERCEPT® (Intercept Blood System, Cerus Corporation, Concord, CA, USA) το οποίο στηρίζεται στην προσθήκη amotosalen (παράγωγο του ψωραλένιου) στα αιμοπεταλιακά παράγωγα, τα οποία και στη συνέχεια υποβάλλονται σε υπεριώδη ακτινοβολία Α (UVA). Το amotosalen, το οποίο και έχει προσδεθεί στα ριβονουκλεϊκά οξέα των μικροοργανισμών και των εναπομεινάντων WBCs, ενεργοποιείται από την τελευταία και οδηγεί σε cross-linking των DNA και RNA με αποτέλεσμα την καταστροφή ιών, βακτηρίων, πρωτοζώων και των υπολειπόμενων WBCs ενώ το μη ενεργοποιηθέν amotosalen απομακρύνεται από τα παράγωγα με συσκευή προσρόφησης.

Τα μέχρι τώρα στοιχεία δείχνουν ότι η μέθοδος αυτή είναι ασφαλής, μη τοξική και μη μεταλλαξιογόνα.²⁶⁻²⁹ Δεδομένα από την πρώτη τυχαίοποιημένη κλινική μελέτη υποστηρίζουν και την αποτελεσματικότητα της χορήγησης αδρανοποιημένων PLTs³⁰, όπως και μεταγενέστερες μελέτες^{31,32}, ενώ σε άλλες μελέτες ο δείκτης διόρθωσης της αύξησης του αριθμού των PLTs (Corrected Count Increment, CCI) ήταν χαμηλότερος από ότι με τα συμβατικά παράγωγα.³³⁻³⁵ Αντικρουόμενα μεταξύ τους είναι και τα αποτελέσματα 2 μετα-αναλύσεων.^{36,37}

Δύο ακόμα συστήματα αδρανοποίησης παθογόνων μικροοργανισμών έχουν αναπτυχθεί, χωρίς ωστόσο να υπάρχει ακόμα η ανάλογη κλινική εμπειρία. Το σύστημα Mirasol® (Terumo BCT, Tokyo, Japan) χρησιμοποιεί τη ριβοφλαβίνη, η οποία συνδέεται με τα νουκλεϊνικά οξέα και με τη δράση της υπεριώδους ακτινοβολίας προκαλεί τη μη επιδιορθώσιμη βλάβη τους^{38,39} ενώ το Theraflex® (Macopharma, Tourcoing, France) χρησιμοποιεί επίσης υπεριώδη ακτινοβολία (UVC) αλλά χωρίς την προσθήκη φωτοχημικά ενεργοποιούμενης ουσίας.⁴⁰

Αποτελεσματικότητα της μετάγγισης αιμοπεταλίων – Ανθεκτικότητα στις μεταγγίσεις

Η εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της μετάγ-

γισης PLTs αποτελεί πρόκληση. Το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο κριτήριο είναι ο CCI αλλά κλινικά πιο χρήσιμο δείκτη αποτελεί η εμφάνιση ή η μη υποχώρηση των αιμορραγικών συμβαμάτων, χωρίς να φαίνεται να υπάρχει πάντα συσχέτιση μεταξύ τους. Παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της μετάγγισης PLTs είναι η χορηγούμενη δόση, η ABO συμβατότητα, ο χρόνος που παραμένουν αποθηκευμένα τα PLTs, η χρήση προσθετικών διαλυμάτων ή πλάσματος για την επαναραίωση των PLTs, η ακτινοβολή τους και οι διαδικασίες αδρανοποίησης των παθογόνων αλλά και κλινικές καταστάσεις όπως ο πυρετός, η παρουσία λοίμωξης ή σήψης, η σπληνομεγαλία, η ΔΕΠ, η παρουσία GVHD, η αιμορραγία και φάρμακα όπως η βανκομυκίνη, η ηπαρίνη και οι GPIIb/IIIa ανταγωνιστές.

Ο ορισμός της ανθεκτικότητας απαιτεί πτωχή απάντηση σε 2 συνεχόμενες συνεδρίες μετάγγισης PLTs, δηλαδή 2 ή περισσότεροι προσδιορισμοί του CCI <7.500 ή <4.500 μία ώρα ή 18-24 ώρες μετά τη μετάγγιση ABO συμβατών και αποθηκευμένων λιγότερο από 3 ημέρες PLTs αντίστοιχα, κάτι που στην κλινική πράξη δε γίνεται εύκολα. Ανθεκτικότητα στις μεταγγίσεις PLTs παρατηρείται στο 30% περίπου των ασθενών ακόμα και αν χορηγούνται HLA (Human Leukocyte Antigen)-συμβατά και λευκαφαιρεμένα παράγωγα^{41,42} και διακρίνεται σε ανοσολογικής και μη ανοσολογικής αρχής. Η μη άνοση ανθεκτικότητα είναι πολύ συχνότερη. Σε ασθενείς με αιματολογικές ή άλλες κακοήθειες και ανθεκτικότητα στη μετάγγιση PLTs, οι μη ανοσολογικοί παράγοντες αντιπροσωπεύουν το 72-88%, ενώ η ανάπτυξη αντι-HLA αντισωμάτων το 25-39%.⁶ Στους μη ανοσολογικής αρχής μηχανισμούς περιλαμβάνονται η αιμορραγία, η σήψη, η σπληνομεγαλία, φάρμακα και η GVHD σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αλλογενή μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (αλλοΜΑΑΚ). Στους ανοσολογικής αρχής μηχανισμούς περιλαμβάνονται η ανάπτυξη αντι-HLA αντισωμάτων κυρίως αλλά και η παρουσία αντι-HPA αντισωμάτων ή/και ο συνδυασμός τους.⁴³ Στην αλλοΜΑΑΚ σημαντικό ρόλο παίζουν και τα αντιγόνα του ελάσσονος συστήματος ιστοσυμβατότητας.⁴⁴

Στους ανθεκτικούς στις μεταγγίσεις PLTs ασθενείς θα πρέπει πρώτα να αποκλειστούν τα μη ανοσολογικής αρχής αίτια. Αν πιθανολογείται η ύπαρξη ανοσολογικού μηχανισμού θα πρέπει να γίνει αναζήτηση για τυχόν ύπαρξη αντι-HLA αντισωμάτων και, αν ο έλεγχος αποβεί θετικός, θα πρέπει να γίνει HLA (τάξεως I) τυποποίηση των αιμοπεταλιοδοτών και επιλογή HLA ταυτόσημων μονάδων αιμοπεταλιαφαίρεσης, επιλογή HLA συμβατών παραγώγων που δεν εμφανίζουν δια-

σταυρούμενη αντίδραση με τα αντι-HLA αντισώματα του ασθενή ή επιλογή HLA-συμβατών παραγώγων από δότες οι οποίοι είναι αρνητικοί στο HLA αντιγόνο στο οποίο έχει ευαισθητοποιηθεί ο ασθενής. Τα παραπάνω οδηγούν σε ικανοποιητική ανταπόκριση στη μετάγγιση PLTs ένα 50-60% των αρχικά ανθεκτικών στη μετάγγιση ασθενών.⁴⁵⁻⁴⁷ Η αναντιστοιχία ανάμεσα στα ποσοστά επιτυχίας των μεθόδων αντιμετώπισης αλλοανοσοποίησης που αφορούν τις μονάδες PLTs και τις ΜΣΕ αποδίδονται και στους μη ανοσολογικής αρχής μηχανισμούς αλλά και στην ανάπτυξη αλλοαντισωμάτων έναντι διαλυτών αντιγόνων του πλάσματος.⁴⁸ Σε αυτές τις περιπτώσεις μπορούν να χορηγηθούν αντινωδολυτικοί παράγοντες ή και να μην πραγματοποιηθεί μετάγγιση PLTs αλλά οι ασθενείς να είναι υπό στενή παρακολούθηση.

Αντενδείξεις μετάγγισης PLTs

Σχετικές αντενδείξεις στη μετάγγιση PLTs είναι οι παρακάτω καταστάσεις⁶:

- ΤΤΡ και άλλες μικροαγγειοπαθητικές αιμολυτικές καταστάσεις (ουραιμικό αιμολυτικό σύνδρομο, σύνδρομο HELLP), εκτός επί απειλητικής για τη ζωή αιμορραγίας
- HIT, εκτός επί απειλητικής για τη ζωή αιμορραγίας
- ITP, εκτός επί απειλητικής για τη ζωή αιμορραγίας
- χρόνια ΔΕΠ απουσία αιμορραγίας
- μετά μετάγγιση πορφύρα.

Συμπεράσματα

Η χορήγηση PLTs αποτελεί ένα σημαντικό βοήθημα στην καθημερινή κλινική πράξη για την αποφυγή αιμορραγίας σε ασθενείς με θρομβοπενία λόγω μυελοτοξικότητας, παρά το γεγονός ότι τα όρια κάτω από τα οποία τα αιμορραγικά συμβάματα είναι πιο πιθανά δεν είναι εντελώς σαφή και ενώ παράλληλα πρέπει να συυπολογίζονται και άλλοι παράγοντες πριν την τελική απόφαση για μετάγγιση. Η μετάγγιση PLTs παρουσία σοβαρής αιμορραγικής εκδήλωσης είναι επίσης σημαντική για την καλή έκβαση των ασθενών, ειδικά σε περίπτωση ΔΕΠ ή αιμορραγίας στο κεντρικό νευρικό σύστημα ή στον αμφιβληστροειδή, και ακόμα και επί ύπαρξης σχετικών αντενδείξεων δεν πρέπει να καθυστερεί. Τέλος, η προληπτική χορήγηση PLTs πριν από επεμβατικές πράξεις είναι μία καλά καθιερωμένη κλινική πρακτική, χωρίς ωστόσο και σε αυτή την περίπτωση να υπάρχει απόλυτη συμφωνία μεταξύ των ειδικών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kaufman RM, Djulbegovic B, Gernsheimer T, Kleinman S, Tinmouth AT, Capocelli KE, et al. Platelet transfusion: a clinical practice guideline from the AABB. *Ann Intern Med.* 2015;162:205-13.
2. Schmidt AE, Refaai MA, Blumberg N. Platelet Transfusion and Thrombosis: More Questions than Answers. *Semin Thromb Hemost.* 2016;42:118-24.
3. Slichter SJ. Controversies in platelet transfusion therapy. *Annu Rev Med.* 1980; 31:509-40.
4. Estcourt LJ, Birchall J, Lowe D, Grant-Casey J, Rowley M, Murphy MF. Platelet transfusions in haematology patients: are we using them appropriately? *Vox Sang.* 2012 Nov;103:284-93.
5. Schiffer CA, Anderson KC, Bennett CL, Bernstein S, Elting LS, Goldsmith M, et al. Platelet transfusion for patients with cancer: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol.* 2001;19:1519-38.
6. Κατευθυντήριες οδηγίες μετάγγισης αίματος και παραγώγων του. Ελληνική Αιματολογική Εταιρεία, Τμήμα Αιμοδοσίας – Αφαίρεσης. Αθήνα 2010.
7. Estcourt LJ, Heddle N, Kaufman R, McCullough J, Murphy MF, Slichter S, et al; Biomedical Excellence for Safer Transfusion Collaborative. The challenges of measuring bleeding outcomes in clinical trials of platelet transfusions. *Transfusion.* 2013;53:1531-43.
8. Stanworth SJ, Estcourt LJ, Powter G, Kahan BC, Dyer C, Choo L, et al. A no-prophylaxis platelet transfusion strategy for hematologic cancers. *New Engl J Med.* 2013;368:1771-80.
9. Stanworth SJ, Hudson CL, Estcourt LJ, Johnson RJ, Wood EM; TOPPS study investigators. Risk of bleeding and use of platelet transfusions in patients with hematologic malignancies: recurrent event analysis. *Haematologica.* 2015;100:740-7.
10. Slichter SJ, Kaufman RM, Assmann SF, McCullough J, Triulzi DJ, Strauss RG, et al. Dose of prophylactic platelet transfusions and prevention of hemorrhage. *New Engl J Med.* 2010;362:600-13.
11. Estcourt LJ, Stanworth SJ, Murphy MF. Platelet transfusions for patients with haematological malignancies: who needs them? *Br J Haematol.* 2011;154:425-40.
12. Estcourt LJ, Stanworth S, Doree C, Trivella M, Hopewell S, Blanco P, et al. Different doses of prophylactic platelet transfusion for preventing bleeding in people with haematological disorders after myelosuppressive chemotherapy or stem cell transplantation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015 Oct 27;10:CD010984.
13. Fillmore WJ, Leavitt BD, Arce K. Dental extraction in the thrombocytopenic patient is safe and complications are easily managed. *J Oral Maxillofac Surg.* 2013;71:1647-52.
14. Mannucci PM. Hemostatic drugs. *N Engl J Med.* 1998;

- 339:245-53.
15. Antun AG, Gleason S, Arellano M, Langston AA, McLemore ML, Gaddh M, et al. Epsilon aminocaproic acid prevents bleeding in severely thrombocytopenic patients with hematological malignancies. *Cancer*. 2013;119:3784-7.
 16. Kalmadi S, Tiu R, Lowe C, Jin T, Kalaycio M. Epsilon aminocaproic acid reduces transfusion requirements in patients with thrombocytopenic hemorrhage. *Cancer*. 2006;107:136-40.
 17. Registry and results database of clinical studies, maintained by the National Library of Medicine (NLM) at the National Institutes of Health (NIH), <https://clinicaltrials.gov/>.
 18. Shpilberg O, Blumenthal R, Sofer O, Katz Y, Chetrit A, Ramot B, et al. A controlled trial of tranexamic acid therapy for the reduction of bleeding during treatment of acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. 1995;19:141-4.
 19. Fricke W, Alling D, Kimball J, Griffith P, Klein H. Lack of efficacy of tranexamic acid in thrombocytopenic bleeding. *Transfusion*. 1991;31:345-8.
 20. Blajchman MA, Slichter SJ, Heddle NM, Murphy MF. New strategies for the optimal use of platelet transfusions. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2008:198-204.
 21. Lee DH, Blajchman MA. Platelet substitutes and novel methods of platelet preservation. In: Michelson AD, ed. *Platelets*. 2nd Edition. San Diego, CA: Elsevier; 2007:1297-1309.
 22. Poon MC. The evidence for the use of recombinant human activated factor VII in the treatment of bleeding patients with quantitative and qualitative platelet disorders. *Transfus Med Rev*. 2007;21:223-36.
 23. Kuter DJ. New thrombopoietic growth factors. *Blood*. 2007;109:4607-16.
 24. Hillgruber C, Pöppelmann B, Weishaupt C, Steingraber AK, Wessel F, Berdel WE, et al. Blocking neutrophil diapedesis prevents hemorrhage during thrombocytopenia. *J Exp Med*. 2015;212:1255-66.
 25. Webert KE, Arnold DM, Lui Y, Carruthers J, Arnold E, Heddle NM. A new tool to assess bleeding severity in patients with chemotherapy-induced thrombocytopenia. *Transfusion*. 2012;52:2466-74.
 26. Ciaravino V, McCullough T, Cimino G, Sullivan T. Pre-clinical safety profile of plasma prepared using the INTERCEPT Blood System. *Vox Sang*. 2003;85:171-82.
 27. Ciaravino V, McCullough T, Cimino G. The role of toxicology assessment in transfusion medicine. *Transfusion*. 2003;43:1481-92.
 28. van Rhenen D, Gulliksson H, Cazenave JP, Pamphilon D, Ljungman P, Kluter H, et al. Transfusion of pooled buffy coat platelet components prepared with photochemical pathogen inactivation treatment: the euroSPRITE trial. *Blood*. 2003;101:2426-33.
 29. Infanti L, Stebler C, Job S, Ruesch M, Gratwohl A, Irsch J, et al. Pathogen-inactivation of platelet components with the INTERCEPT Blood System: a cohort study. *Transfus Apher Sci*. 2011;45:175-81.
 30. van Rhenen D, Gulliksson H, Cazenave JP, et al. Transfusion of pooled buffy coat platelet components prepared with photochemical pathogen inactivation treatment: the euroSPRITE trial. *Blood* 2003;101:2426-33.
 31. Lozano M, Knutson F, Tardivel R, Cid J, Maymo RM, Lof H, et al. A multi-centre study of therapeutic efficacy and safety of platelet components treated with amotosalen and ultraviolet A pathogen inactivation stored for 6 or 7 d prior to transfusion. *Brit J Haematol*. 2011;153:393-401.
 32. Sigle JP, Infanti L, Studt JD, Martinez M, Stern M, Gratwohl A, et al. Comparison of transfusion efficacy of amotosalen-based pathogen-reduced platelet components and gamma-irradiated platelet components. *Transfusion*. 2012.
 33. McCullough J, Vesole DH, Benjamin RJ, Slichter SJ, Pineda A, Snyder E, et al. Therapeutic efficacy and safety of platelets treated with a photochemical process for pathogen inactivation: the SPRINT Trial. *Blood*. 2004;104:1534-41.
 34. Janetzko K, Cazenave JP, Kluter H, Kientz D, Michel M, Beris P, et al. Therapeutic efficacy and safety of photochemically treated apheresis platelets processed with an optimized integrated set. *Transfusion*. 2005;45:1443-52.
 35. Kerkhoffs JL, van Putten WL, Novotny VM, Te Boekhorst PA, Schipperus MR, Zwaginga JJ, et al. Clinical effectiveness of leucoreduced, pooled donor platelet concentrates, stored in plasma or additive solution with and without pathogen reduction. *Br J Haematol*. 2010;150:209-17.
 36. Cid J, Escolar G, Lozano M. Therapeutic efficacy of platelet components treated with amotosalen and ultraviolet A pathogen inactivation method: results of a meta-analysis of randomized controlled trials. *Vox Sang*. 2012;103:322-30.
 37. Vamvakas EC. Meta-analysis of the studies of bleeding complications of platelets pathogen-reduced with the Intercept system. *Vox Sang*. 2012;102:302-16.
 38. Mirasol Clinical Evaluation Study Group. A randomized controlled clinical trial evaluating the performance and safety of platelets treated with MIRASOL pathogen reduction technology. *Transfusion*. 2010;50:2362-75.
 39. Marschner S, Goodrich R. Pathogen Reduction Technology Treatment of Platelets, Plasma and Whole Blood Using Riboflavin and UV Light. *Transfus Med Hemother*. 2011;38:8-18.
 40. Seltsam A, Müller TH. Update on the use of pathogen-reduced human plasma and platelet concentrates. *Br J Haematol*. 2013;162:442-54.
 41. Kickler TS. The challenge of platelet alloimmunization: management and prevention. *Transfus Med Rev*. 1990;4(4 Suppl 1):8-18.
 42. Benson K, Fields K, Hiemenz J, Zorsky P, Ballester O, Perkins J, et al. The platelet-refractory bone marrow transplant patient: prophylaxis and treatment of bleeding. *Semin Oncol*. 1993;20(5 Suppl 6):102-9.

43. Hod E, Schwartz J. Platelet transfusion refractoriness. *Brit J Haematol.* 2008;142:348–60.
44. Falkenburg JH, Marijt WA, Heemskerk MH, Willemze R. Minor histocompatibility antigens as targets of graft-versus-leukemia reactions. *Curr Opin Hematol.* 2002;9:497–502.
45. Rebutta P. Refractoriness to platelet transfusion. *Curr Opin Hematol.* 2002;9:516–20.
46. Petz LD, Garratty G, Calhoun L, Clark BD, Terasaki PI, Gresens C, et al. Selecting donors of platelets for refractory patients on the basis of HLA antibody specificity. *Transfusion.* 2000;40:1446–56.
47. Kickler TS, Ness PM, Braine HG. Platelet crossmatching: a direct approach to the selection of platelet transfusions for the alloimmunized thrombocytopenic patient. *Am J Clin Pathol.* 1988;90:69–72.
48. Heal JM, Cowles J, Masel D, Rowe JM, Blumberg N. Antibodies to plasma proteins: an association with platelet transfusion refractoriness. *Br J Haematol.* 1992;80:83–90.

Καταλληλότητα του ασθενούς για μεταμόσχευση: Μέθοδοι εκτίμησης και ανάλογες θεραπευτικές αποφάσεις

ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΤΣΙΡΙΓΩΤΗΣ, ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΓΚΙΡΚΑΣ, ΜΑΡΙΑ ΣΤΑΜΟΥΛΗ

Β' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Π.Γ.Ν. Αττικό

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων (άλλο-ΜΑΚ) αποτελεί την ισχυρότερη αντιλευχαιμική θεραπεία. Μειονέκτημα της μεθόδου είναι η σημαντική νοσηρότητα και θνητότητα με αποτέλεσμα τον περιορισμό της ευρείας εφαρμογής της μεθόδου. Το γεγονός αυτό επιβάλλει την εφαρμογή της άλλο-ΜΑΚ σε επιλεγμένες ομάδες ασθενών στους οποίους το αναμενόμενο όφελος υπερτερεί της θνητότητας. Επομένως η λήψη της θεραπευτικής απόφασης πρέπει να γίνεται αφού προηγουμένως έχει γίνει εκτίμηση: 1) της θνητότητας που σχετίζεται με την άλλο-ΜΑΚ, και 2) της πιθανότητας υποτροπής και της μακράς επιβίωσης ελεύθερης νόσου μετά από άλλο-ΜΑΚ σε σύγκριση με την χρήση συμβατικής θεραπείας.

Στο παρόν κεφάλαιο θα γίνει παρουσίαση κλινικών περιπτώσεων και θα γίνει σύντομη περιγραφή των κλινικών συστημάτων σε χρήση για την εκτίμηση της μεταμοσχευτικής θνητότητας και του κινδύνου υποτροπής της νόσου.

Περίπτωση 1

Ασθενής άνδρας 20 ετών χωρίς άλλα συνοδά ιατρικά προβλήματα διαγνώστηκε με οξεία μυελογενή λευχαιμία (ΟΜΛ). Από την γενική αίματος ο ασθενής παρουσίαζε αριθμό λευκών=65.000 με 80% βλαστικά κύτταρα, ορισμένα εκ των οποίων παρουσίαζαν ραβδία Auer. Ο ανοσοφαινότυπος μυελού ήταν συμβατός με την διάγνωση ΟΜΛ-Μ2. Ο κυτταρογενετικός έλεγχος μυελικών μεταφάσεων ανέδειξε την παρουσία της αντιμετάθεσης t(8;21) σαν μοναδική κυτταρογενετική

ανωμαλία. Έλεγχος για παρουσία μεταλλάξεων στο γονίδιο C-KIT δεν πραγματοποιήθηκε. Ο ασθενής αντιμετωπίστηκε με την κλασσική θεραπεία εφόδου με τον συνδυασμό "7+3". Ο ασθενής επέτυχε πλήρη αιματολογική ύφεση με την 1^η θεραπεία εφόδου και προγραμματίστηκε να συνεχίσει με θεραπεία σταθεροποίησης με χορήγηση υψηλών δόσεων αρασιτίνης (HiDAC). Έλεγχος για συμβατό δότη στο οικογενειακό περιβάλλον ανέδειξε την παρουσία υγιούς και πλήρως ιστοσυμβατού αδελφού ηλικίας 26 ετών. Ποία η προτεινόμενη θεραπευτική απόφαση;

Περίπτωση 2

Γυναίκα ασθενής ηλικίας 55 ετών διαγιγνώσκεται με ΟΜΛ στα πλαίσια διερεύνησης εμπύρετου. Ο αριθμός των λευκών στην διάγνωση ήταν 25.000 με 50% βλαστικά κύτταρα. Ο ανοσοφαινότυπος μυελού ήταν συμβατός με ΟΜΛ-Μ1. Κυτταρογενετική μελέτη μυελικών μεταφάσεων ανέδειξε φυσιολογικό καρυότυπο, ενώ μοριακός έλεγχος για την ανάδειξη NPM1-mut, FIt3-ITD, και CEBPα ήταν αρνητικός. Από το ατομικό αναμνηστικό αναφέρεται παχυσαρκία και ινσουλινοθεραπευόμενος σακχαρώδης διαβήτης τύπου ΙΙ. Στην ασθενή χορηγήθηκε ο συνδυασμός εφόδου "7+3" με αποτέλεσμα πλήρη μορφολογική ύφεση της νόσου. Η ασθενής δεν είχε αδέρφια, ενώ η διαδικασία αναζήτησης μη-συγγενούς συμβατού δότη ανέδειξε την απουσία καλά συμβατού δότη (8/8 allele matched στα A, B, C, DRB1), ενώ διαπιστώθηκε η διαθεσιμότητα 2 δοτών με 1-B-allele mismatch στην GVH κατεύθυνση. Ποία η προτεινόμενη θεραπευτική απόφαση;

Περίπτωση 3

Ανδρας ασθενής 60 ετών διαγνώσθηκε με ΟΜΛ στα πλαίσια εργαστηριακής διερεύνησης για σύνδρομο κόπωσης και δύσπνοιας στην προσπάθεια. Ο αριθμός λευκών στην διάγνωση ήταν 2.000 με 10% βλαστικά κύτταρα. Ο ανοσοφαινότυπος μυελού ήταν συμβατός με ΟΜΛ-M5. Κυτταρογενετική μελέτη μυελικών μεταφάσεων ανέδειξε την παρουσία μονοσωμικού καρυότυπου (-7, -9, και del11q στο σύνολο σχεδόν των μελετημένων μεταφάσεων. Ο ασθενής έλαβε θεραπεία με τον κλασσικό συνδυασμός εφόδου "7+3" αλλά δυστυχώς δεν επέτυχε ύφεση της νόσου και για αυτό τον λόγο την ημέρα +20 του χορηγήθηκε θεραπεία διάσωσης με τον συνδυασμό "Ida-FLAG". Ο ασθενής ανταποκρίθηκε ευνοϊκά και επέτυχε πλήρη μορφολογική και κυτταρογενετική ύφεση της νόσου ενώ αποφασίστηκε να λάβει και 2^ο κύκλο με σκοπό την σταθεροποίηση της νόσου. Από τον έλεγχο του οικογενειακού περιβάλλοντος δεν διαπιστώθηκε η παρουσία πλήρως ιστοσυμβατού δότη. Από την αναζήτηση μη-συγγενών συμβατών δοτών διαπιστώθηκε η απουσία διαθέσιμου αποδεκτού δότη (7/8 allele matched). Επίσης να σημειωθεί ότι ο ασθενής ανέχθηκε τις θεραπείες χωρίς ιδιαίτερη τοξικότητα και δεν παρουσιάζει ουδεμία συν-νοσηρότητα. Το ερώτημα που απασχολεί τους θεράποντες είναι η περαιτέρω αντιμετώπιση του ασθενούς με δεδομένη την πτωχή πρόγνωση της νόσου και την απουσία διαθέσιμου συμβατού δότη. Ποια η προτεινόμενη θεραπευτική απόφαση;

Περίπτωση 4

Ασθενής 45 ετών, άνδρας με ελεύθερο ατομικό αναμνηστικό προσέρχεται για διερεύνηση οστικών αλγών και πυρετού από 10 ημερών. Στην γενική αίματος διαπιστώνεται αναιμία, θρομβοπενία και λευκά=10.000 με βλάστες σε ποσοστό 80%. Από τον πλήρη εργαστηριακό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι ο ασθενής πάσχει από οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ) με ανοσοφαινότυπο συμβατό με common-B-ΟΛΛ. Κυτταρογενετικός έλεγχος αναδεικνύει την παρουσία φυσιολογικών μεταφάσεων και μοριακός έλεγχος για την παρουσία των αναδιατάξεων t(9;22) και t(4;11) ήταν αρνητικός. Στον ασθενή χορηγήθηκε το πρωτόκολλο UKAL-XII και παρουσίασε ταχεία υποχώρηση των βλαστών από το περιφερικό αίμα και πλήρη μορφολογική και ανοσοφαινοτυπική ύφεση σε επανέλεγχο που έγινε 4 εβδομάδες μετά την έναρξη της θεραπείας. Ο ασθενής δεν διαθέτει συγγενή συμβατό δότη αλλά έλεγχος για αναζήτηση μη-συγγενούς

δότη ανέδειξε την παρουσία αρκετών συμβατών δοτών (10/10 allele matched). Ποια η προτεινόμενη θεραπευτική απόφαση;

Παράγοντες που καθορίζουν την πρόγνωση και την πιθανότητα υποτροπής

Οι παράγοντες που καθορίζουν την πιθανότητα υποτροπής των ασθενών με Οξεία Λευχαιμία που υποβάλλονται σε αλλογενή μεταμόσχευση περιγράφονται συνοπτικά παρακάτω.

Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία

Ανάλυση μεγάλου όγκου δεδομένων από προηγούμενες μελέτες έχει δείξει ότι οι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με αυξημένη πιθανότητα υποτροπής μετά την άλλο-ΜΑΚ είναι παρόμοιοι με τους παράγοντες που καθορίζουν την πρόγνωση με την συμβατική χημειοθεραπεία (Πίνακας 1)¹⁻⁶. Επομένως τα βασικά προγνωστικά συστήματα όπως π.χ. το προτεινόμενο από την ομάδα European Leukemia Net (ELN) διατηρούν την προγνωστική τους σημασία και σε περιπτώσεις ασθενών που πρόκειται ή έχουν ήδη υποβληθεί σε άλλο-ΜΑΚ⁷. Θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε με σχετική ασφάλεια ότι η άλλο-ΜΑΚ δεν εξαφανίζει πλήρως την προγνωστική σημασία των διάφορων παραγόντων κινδύνου αν και μειώνει σημαντικά την πιθανότητα υποτροπής σε όλες τις προγνωστικές υπο-ομάδες. Η ομάδα εργασίας ELN προτείνει σαν γενικό κανόνα την παραδοχή ότι η άλλο-ΜΑΚ μειώνει την πιθανότητα υποτροπής στο ήμισυ της αντίστοιχης υποτροπής που παρατηρείται μετά από συμβατική χημειοθεραπεία⁸.

Επίσης σημαντικός παράγοντας που καθορίζει την πιθανότητα υποτροπής είναι και η κατάσταση νόσου κατά την χρόνο της άλλο-ΜΑΚ με ασθενείς οι οποίοι μεταμοσχεύονται στην 1^η πλήρη ύφεση να έχουν την καλύτερη πρόγνωση. Αντίθετα ασθενείς που μεταμοσχεύονται με ενεργό νόσο ιδίως εάν έχει προηγηθεί χημειοθεραπεία και στην οποία ήταν ανθεκτικοί, έχουν πολύ μεγάλη πιθανότητα υποτροπής και μακρά επιβίωση που δεν ξεπερνά το 15-20%⁹⁻¹¹.

Πολύ σημαντικός παράγοντας κινδύνου που σχετίζεται με την υποτροπή μετά άλλο-ΜΑΚ είναι και η ελάχιστη υπολειπόμενη νόσος (EYN) κατά το χρόνο της άλλο-ΜΑΚ. Η EYN μπορεί να προσδιοριστεί με τη χρήση ποσοτικής PCR στο μικρό ποσοστό ασθενών με ΟΜΛ με χαρακτηριστικές αντιμεταθέσεις ή μεταλλάξεις. Αντίθετα για την πλειοψηφία των ασθενών με ΟΜΛ η EYN δύναται πλέον να προσδιορισθεί με τη χρήση πολυπαραμετρικής κυτταρομετρίας ροής (MPFC) με

Πίνακας 1. Παράγοντες κινδύνου για υποτροπή μετά από Αλλογενή Μεταμόσχευση σε ασθενείς με Οξεία Λευχαιμία

Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία			
Παράμετρος		Πιθανότητα υποτροπής	Βιβλ. αναφορά
Κυτταρογενετική Ομάδα	Ευνοϊκή πρόγνωση Ενδιάμεση πρόγνωση Πτωχή πρόγνωση	Χαμηλή Ενδιάμεση Υψηλή	1,2,8
Άλλες διαταραχές	Μονοσωμικός Καρυότυπος	Πολύ υψηλή	3,4
Μοριακές διαταραχές	NPM1-mut, FIt3-wt biallelic CEBPa-mut FIt3-ITD NPM1-wt, FIt3-wt, CEBPa-wt	Χαμηλή Χαμηλή Υψηλή Ενδιάμεση	5-7
Κατάσταση νόσου	1 ^η Πλήρης ύφεση Μετά την 1 ^η ΠΥ	Χαμηλή Υψηλή	9-11
Κατάσταση EYN	EYN-ανιχνεύσιμη κατά την άλλο-ΜΑΚ	Υψηλή	12-15
Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία			
Προγνωστική ομάδα	Σταθερού κινδύνου Υψηλού κινδύνου Πολύ υψηλού κινδύνου	Χαμηλή Υψηλή Πολύ υψηλή	16,17
Κατάσταση νόσου	1η Πλήρης ύφεση Μετά την 1η ΠΥ	Χαμηλή Υψηλή	18
Μοριακές διαταραχές	Αντιμεταθέσεις MLL Philadelphia(+) BCR/ABL1-like	Υψηλή	19,20
Κατάσταση EYN	EYN-ανιχνεύσιμη κατά την άλλο-ΜΑΚ	Υψηλή	21-25

Συνομογραφίες: Περιγράφονται στο κείμενο

σχετικά μεγάλη ακρίβεια και επαναληψιμότητα. Πλήθος μελετών σε παιδιατρικούς αλλά και ενήλικες ασθενείς με ΟΜΛ έχουν πλέον δείξει ότι ανιχνεύσιμη EYN κατά τη χρονική στιγμή της άλλο-ΜΑΚ συσχετίζεται με μεγαλύτερη πιθανότητα υποτροπής συγκριτικά με ασθενείς που μεταμοσχεύονται με αρνητική EYN¹²⁻¹⁵.

Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία

Στην περίπτωση της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας (ΟΛΛ) και σχετικά με την πιθανότητα υποτροπής μετά από άλλο-ΜΑΚ ισχύουν γενικά οι ίδιες αρχές που ισχύουν και στην περίπτωση της ΟΜΛ (Πίνακας 1). Η άλλο-ΜΑΚ μειώνει την πιθανότητα υποτροπής αναλογικά σε όλες τις ομάδες κινδύνου. Επιπλέον από τη μεγαλύτερη μελέτη που πραγματοποιείται το θέμα της άλλο-ΜΑΚ στην ΟΛΛ των ενηλίκων ασθενών και προέρχεται από το Ηνωμένο Βασίλειο (UKALL-XII) προκύπτουν πολύ ενδιαφέροντα αποτελέσματα. Στην μελέτη αυτή οι ασθενείς με πλήρως συμβατό συγγενή δότη ακολουθούσαν σταθεροποίηση της νόσου με άλλο-ΜΑΚ ανεξαρτήτως της ομάδας κινδύ-

νου. Αντίθετα ασθενείς υψηλού κινδύνου και χωρίς συμβατό συγγενή δότη υποβάλλονται σε άλλο-ΜΑΚ από μη-συγγενή συμβατό δότη εφόσον βεβαία ήταν διαθέσιμος. Η μελέτη αυτή απέδειξε ότι η άλλο-ΜΑΚ προσφέρει θεραπευτικό όφελος σε σχέση με την συμβατική θεραπεία επειδή μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο υποτροπής της νόσου και αυτό το όφελος ήταν πλέον εμφανές στην ομάδα ασθενών σταθερού κινδύνου οι οποίοι μέχρι τότε δεν ήταν σαφές εάν θα πρέπει να υποβάλλονται σε άλλο-ΜΑΚ στην 1^η πλήρη ύφεση¹⁶. Στην μελέτη ανεδείχθησαν και οι σπουδαιότεροι προγνωστικοί παράγοντες που καθορίζουν την πρόγνωση των ασθενών με ΟΛΛ και ήταν: 1) η ηλικία άνω των 35 ετών, 2) ο αριθμός των λευκών (>100.000 για Τ-ΟΛΛ, και >30.000 για Β-ΟΛΛ) και 3) η κυτταρική σειρά με την Τ-ΟΛΛ να υπερτερεί της Β-ΟΛΛ¹⁷.

Επίσης και σε αντιστοιχία με την ΟΜΛ η φάση της νόσου κατά την χρονική στιγμή της άλλο-ΜΑΚ καθορίζει σε σημαντικό βαθμό την πρόγνωση με την έκβαση της μεταμόσχευσης να είναι καλύτερη σε πρωιμότερες φάσεις της νόσου. Αντίθετα τα απο-

τελέσματα στην ΟΛΛ είναι πολύ πτωχά σε ασθενείς με ενεργό νόσο¹⁸.

Η πρόγνωση επίσης καθορίζεται από το "profile" των μοριακών διαταραχών. Ασθενείς με συγκεκριμένες μοριακές διαταραχές όπως οι αντιμεταθέσεις του γονιδίου MLL καθώς και η πρόσφατα χαρακτηρισθείσα ομάδα των BCR-ABL1-like ΟΛΛ παρουσιάζουν εξαιρετικά δυσμενή πρόγνωση^{19,20}.

Η εκτίμηση της ΕΥΝ είναι ίσως ο πλέον σημαντικός παράγοντας που καθορίζει την πρόγνωση των ασθενών με ΟΛΛ. Το γεγονός αυτό οφείλεται σε: 1) Η εκτίμηση της ΕΥΝ με τη χρήση MPFC έχει τύχει ευρείας εφαρμογής και έχει εισαχθεί στα περισσότερα σύγχρονα κλινικά πρωτόκολλα θεραπείας της ΟΛΛ τόσο των παιδών όσο και των ενηλίκων, και 2) Στην ΟΛΛ σε αντίθεση με την ΟΜΛ είναι εφικτή η μελέτη της ΕΥΝ με πολύ ευαίσθητες τεχνικές όπως η ποσοτική PCR με τη χρήση κλωνοειδικών εκκινητών. Με βάση τα δεδομένα πολλών μελετών φαίνεται ότι η παρουσία ανιχνεύσιμης ΕΥΝ πριν την άλλο-ΜΑΚ σχετίζεται με πολύ υψηλό κίνδυνο υποτροπής της νόσου²¹⁻²⁵.

Δείκτης Κινδύνου Νόσου

Ο δείκτης κινδύνου νόσου (Disease Risk Index, DRI) αναπτύχθηκε με σκοπό την εκτίμηση της ολικής επιβίωσης μετά από άλλο-ΜΑΚ. Η ανάπτυξη του DRI αρχικά βασίστηκε στα δεδομένα ενός κέντρου και

αργότερα διαπιστώθηκε η ισχύς του και στην εκτίμηση της πρόγνωσης ασθενών από άλλα κέντρα²⁶⁻²⁸.

Η προγνωστική σημασία του DRI επικυρώθηκε και επικαιροποιήθηκε σε μεγάλο αριθμό ασθενών από πολλά διαφορετικά κέντρα που καταχωρούν τα δεδομένα τους στο Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR). Η στατιστική ανάλυση έγινε επί 13.000 περίπου ασθενών με διάφορες αιματολογικές κακοήθειες και το πρωτεύον καταληκτικό σημείο ήταν η ολική επιβίωση. Για την διαμόρφωση του δείκτη λαμβάνονται υπόψη 2 παράμετροι (το είδος της νόσου και η φάση της νόσου). Με βάση τα δεδομένα αυτά οι ασθενείς κατατάσσονται σε 4 ομάδες κινδύνου με 2-ετή ολική επιβίωση που κυμαίνεται από 25% μέχρι περίπου 70%. Η ταξινόμηση των οξειών λευχαιμιών με βάση τον DRI φαίνεται στον Πίνακα 2²⁹.

Παράγοντες που καθορίζουν τη θνητότητα μετά από αλλογενή μεταμόσχευση

Πολύ σημαντικός παράγοντας που καθορίζει την θεραπευτική απόφαση για την επιλογή ή όχι της άλλο-ΜΑΚ είναι η θνητότητα που σχετίζεται με την διαδικασία. Οι παράμετροι που σχετίζονται με την μεταμοσχευτική θνητότητα καθώς και τα προγνωστικά συστήματα που είναι σε κλινική χρήση περιγράφονται στις επόμενες παραγράφους:

Πίνακας 2. Ταξινόμηση του κινδύνου των οξειών λευχαιμιών με βάση τον DRI

Νόσος	Κίνδυνος νόσου		
ΟΜΛ με ευνοϊκό καρυότυπο	Χαμηλός		
ΟΛΛ ΟΜΛ με ενδιάμεσης πρόγνωσης καρυότυπο	Ενδιάμεσος		
ΟΜΛ με πτωχής πρόγνωση καρυότυπο	Υψηλός		
Στάδιο νόσου	Κίνδυνος σταδίου νόσου		
Πλήρης ύφεση	Χαμηλός		
Πρωτοπαθώς ανθεκτική νόσος Ενεργός υποτροπή	Υψηλός		
Συνολική ταξινόμηση με βάση τον DRI			
Κίνδυνος νόσου	Κίνδυνος σταδίου νόσου	DRI ταξινόμηση	2-ετής Επιβίωση
Χαμηλός	Χαμηλός	Χαμηλός	65%
Χαμηλός	Υψηλός	Ενδιάμεσος	50%
Ενδιάμεσος	Χαμηλός	Υψηλός	35%
Υψηλός	Χαμηλός	Υψηλός	35%
Υψηλός	Υψηλός	Πολύ υψηλός	20%

- 1) Η ηλικία του ασθενούς είναι αναμφίβολα σημαντικός παράγοντας που καθορίζει την θεραπευτική απόφαση για την επιλογή της άλλο-ΜΑΚ. Δεδομένα από πολλές μελέτες δείχνουν ότι η αύξηση της ηλικίας σχετίζεται με αυξημένη θνητότητα και μάλιστα η αύξηση αυτή γίνεται ιδιαίτερα εμφανής μετά την ηλικία των 40 ετών. Βεβαίως η χρονολογική ηλικία δεν συμβαδίζει πάντοτε με τη "βιολογική" ηλικία αλλά το μειονέκτημα της βιολογικής ηλικίας είναι ότι δεν είναι αντικειμενικά μετρήσιμη όπως είναι η χρονολογική³⁰⁻³².
- 2) Η κατάσταση ικανότητας όπως αυτή προσδιορίζεται με τα συστήματα Karnofsky, Zubrod, WHO αποτελεί ίσως τον σημαντικότερο παράγοντα που σχετίζεται με τη μεταμοσχευτική θνητότητα. Το μειονέκτημα με τη συγκεκριμένη παράμετρο είναι ότι η πλειοψηφία των ασθενών που υποβάλλονται σε άλλο-ΜΑΚ έχουν αποδεκτή κατάσταση ικανότητας^{33,34}.
- 3) Η παρουσία άλλων συνοδών ιατρικών προβλημάτων αποτελεί επίσης σημαντικό παράγοντα που καθορίζει την νοσηρότητα και τη θνητότητα που σχετίζεται με την άλλο-ΜΑΚ³⁵⁻³⁷.

Για την ακριβέστερη κατά το δυνατόν εκτίμηση της θνητότητας της άλλο-ΜΑΚ και τη διευκόλυνση στην λήψη των θεραπευτικών αποφάσεων, αναπτύχθηκαν κλινικά μοντέλα στα οποία ενσωματώθηκαν οι διάφοροι παράγοντες κινδύνου. Η προγνωστική σημασία των συστημάτων αυτών έχει επικυρωθεί σε μεγάλες ομάδες ασθενών προερχόμενων από διαφορετικά κέντρα. Τα υπάρχοντα σε κλινική χρήση συστήματα περιγράφονται στις επόμενες παραγράφους.

Hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity index (HCT-CI)

Το σύστημα Charlson Comorbidity Index (CCI) αναπτύχθηκε για την εκτίμηση της επίδρασης συνοδών ιατρικών προβλημάτων-νόσων στην θνητότητα και νοσηρότητα σε διάφορες ιατρικές καταστάσεις. Το CCI σχεδιάστηκε αρχικά για να συμπεριλάβει την επίδραση 19 διαφορετικών χρόνιων κλινικών συνδρόμων στη εκτίμηση της θνητότητας σε ομάδα 559 ασθενών με διάφορα προβλήματα που εισήχθησαν σε παθολογική κλινική. Αργότερα η χρήση του επεκτάθηκε και στην εκτίμηση της θνητότητας σε άλλες κλινικές καταστάσεις όπως πχ στην θεραπεία του καρκίνου του μαστού³⁸. Ερευνητές από το Fred Hutchinson Cancer Research Center μελέτησαν και διαπίστωσαν την ισχυρή προβλεπτική αξία του CCI στην εκτίμηση της θνητότητας που οφείλεται σε άλλο-ΜΑΚ με συγγενείς και μη-συγγενείς δότες^{39,40}.

Σε προσπάθεια να βελτιώσουν την προβλεπτική αξία του συστήματος οι ίδιοι ερευνητές τροποποίησαν το CCI με την προσθήκη ή αφαίρεση ορισμένων κλινικών συνδρόμων και δημιούργησαν ένα ειδικό δείκτη συν-νοσηρότητας προσαρμοσμένο στις ανάγκες της άλλο-ΜΑΚ. Ο δείκτης αυτός ονομάζεται Hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity index (HCT-CI) και αποτελεί χρήσιμο εργαλείο στη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων⁴¹. Η προβλεπτική αξία του δείκτη επικυρώθηκε σε ομάδα 1.000 περίπου ασθενών οι οποίοι υπεβλήθησαν σε άλλο-ΜΑΚ με διάφορα σχήματα προετοιμασίας και με συγγενείς καθώς και μη-συγγενείς δότες. Το σύστημα βασίζεται στην εκτίμηση 17 διαφορετικών κλινικών συνδρόμων, έκαστο εκ των οποίων βαθμολογείται ανάλογα με την βαρύτητα του. Ο κάθε ασθενής ανάλογα με την παρουσία ή όχι μίας εκάστης εξ αυτών των κλινικών καταστάσεων λαμβάνει ένα τελικό αριθμητικό score το οποίο κυμαίνεται από 0 μέχρι 29 (Πίνακας 3). Ασθενείς με score=0 ανήκουν στην ομάδα χαμηλού κινδύνου και η θνητότητα η μη-σχετιζόμενη με υποτροπή (Non-relapse mortality, NRM) στα 2-ετη είναι περίπου 10-15%. Ασθενείς με score=1-2 ανήκουν στην ομάδα ενδιάμεσου κινδύνου και η NRM στα 2-ετη είναι περίπου 20%, και ασθενείς με score ≥3 ανήκουν στην ομάδα υψηλού κινδύνου και η NRM στα 2-ετη είναι περίπου 40%. Η προβλεπτική αξία του HCT-CI έχει επιβεβαιωθεί σε πολλές μελέτες^{42,43}.

EBMT-Risk Index

Ομάδα εργασίας του οργανισμού European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) μελετώντας τα δεδομένα από χιλιάδες ασθενείς με διάφορες αιματολογικές νόσους σχεδίασε σύστημα πρόβλεψης της θνητότητας που σχετίζεται με την άλλο-ΜΑΚ. Οι παράμετροι που διαπιστώθηκε από την πολυπαραγοντική ανάλυση ότι διατηρούν ανεξάρτητη προγνωστική σημασία όπως: 1) η ηλικία ασθενούς, 2) το στάδιο της νόσου κατά την μεταμόσχευση, 3) το χρονικό διάστημα από την διάγνωση μέχρι την άλλο-ΜΑΚ, 4) το είδος του δότη, και 5) ο συνδυασμός φύλου του ζεύγους δότης-λήπτης, εισήχθησαν σε ένα σύστημα βαθμολόγησης το οποίο δίνει αθροιστικό score από 0 μέχρι 7 και αποτελεί τον δείκτη κινδύνου EBMT-Risk Index (Πίνακας 4). Ο δείκτης δίνει πολύ καλή εκτίμηση της NRM η οποία κυμαίνεται από 15% σε ασθενείς με score=0 και φτάνει το 47% σε ασθενείς με score=6-7. Η προβλεπτική αξία του EBMT-Risk Index επικυρώθηκε σε ομάδα 56.000 περίπου ασθενών οι οποίοι υπεβλήθησαν σε άλλο-ΜΑΚ μεταξύ του 1985 και 2005⁴⁴.

Πίνακας 3. HCT-CI.

Συν-νοσηρότητα	Είδος και περιγραφή	HCT-CI score
Αρρυθμία	Κολπική μαρμαρυγή, νόσος φλεβοκόμβου, κοιλιακή αρρυθμία	1
Φλεγμονώδης νόσος εντέρου	Νόσος Crohn, ελκώδης κολίτιδα	1
Καρδιολογικό νόσημα	Στεφανιαία νόσος, προηγηθέν έμφραγμα μυοκαρδίου, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, κλάσμα εξώθησης <50%	1
Σ. Διαβήτης	Ανάγκη ινσουλίνης ή υπογλυκαιμικών δισκίων	1
Καρδιοαγγειακή νόσος	Παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο η αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο	1
Ψυχική νόσος	Κατάθλιψη ή αγχώδης συνδρομή με ανάγκη χορήγησης θεραπείας	1
Ηπια ηπατική διαταραχή	Χρόνια ηπατίτις, τρανσαμινάσες <2.5XULN, χολερυθρίνη <1.5XULN	1
Παχυσαρκία	BMI >35kg/m ²	1
Ενεργός λοίμωξη	Ανάγκη συνέχισης ειδικής αγωγής μετά την ημέρα 0	1
Ρευματολογική νόσος	Συστηματικός λύκος, Ρευματοειδής αρθρίτις, μικτή νόσος, ρευματική πολυμυαλγία	2
Πεπτικό έλκος	Ανάγκη θεραπευτικής παρέμβασης	2
Μέτρια/σοβαρή νεφρική διαταραχή	Κρεατινίνη >2mg, υπό διάλυση, προηγηθείσα μεταμόσχευση νεφρού	2
Μέτρια αναπνευστική διαταραχή	DLCo ή/και FEV1 66%-80%, δύσπνοια στην ήπια δραστηριότητα	2
Άλλη κακοήθεια	Συμπαγής όγκος, εξαιρείται βασικοκυτταρικό δέρματος	3
Βαλβιδοπάθεια	Εξαιρείται η πρόπτωση μιτροειδούς	3
Βαρεία αναπνευστική διαταραχή	DLCo ή/και FEV1 ≤65%, δύσπνοια στην ηρεμία, ανάγκη χορήγησης O ₂	3
Μέτρια/σοβαρή ηπατική διαταραχή	Ηπατική κίρρωση, τρανσαμινάσες ≥2.5XULN, χολερυθρίνη ≥1.5XULN	3

ULN: ανώτερα φυσιολογικά όρια

Πίνακας 4. EBMT Risk Index.

Παράγοντας Κινδύνου	Score point
Ηλικία ασθενούς	
<20 ετών	0
20 – 40 ετών	1
> 40 ετών	2
Στάδιο νόσου	
Πρώιμο	0
Ενδιάμεσο	1
Προχωρημένο	2
Διάστημα από διάγνωση νόσου μέχρι μεταμόσχευση	
<12 μήνες	0
>12 μήνες	1
Είδος δότη	
Συμβατός συγγενής	0
Μη-συγγενής συμβατός δότης	1
Συνδυασμός φύλου δότη-λήπτη	
Όλοι οι συνδυασμοί εκτός	0
Γυναίκα δότης σε άνδρα λήπτη	1

Μεταμόσχευση στη 2^η πλήρη ύφεση

Τα βασικά επιχειρήματα ενάντια στην άλλο-ΜΑΚ στην 1^η πλήρη ύφεση, σε περιπτώσεις όπου η αποτελεσματικότητα της σε σχέση με τη συμβατική χημειοθεραπεία είναι παρόμοια, είναι τα εξής: 1) η σημαντική θνητότητα και η νοσηρότητα που σχετίζεται με την άλλο-ΜΑΚ, και 2) η δυνατότητα εφαρμογής της άλλο-ΜΑΚ σε 2^η πλήρη ύφεση όπου η υπεροχή της είναι σαφής. Το επιχείρημα αυτό ενισχύεται και από αρκετές μελέτες οι οποίες έχουν δείξει ότι η αποτελεσματικότητα της άλλο-ΜΑΚ στη 2^η ύφεση είναι σημαντική και προσφέρει μακρά επιβίωση στο 40-50% των ασθενών⁴⁵. Όμως η επίτευξη 2^{ης} ύφεσης δεν είναι δεδομένη και συμβαίνει σε ποσοστό ασθενών μικρότερο του 50%. Σε δεδομένα από Γερμανική μελέτη της ΟΛΛ, η πιθανότητα επίτευξης 2^{ης} ύφεσης ήταν εφικτή στο 38% των ασθενών με ηλικία άνω των 25 ετών⁴⁶. Αποτέλεσμα του ανωτέρω γεγονότος η μακρά επιβίωση μετά την 1^η υποτροπή είναι αρκετά μικρότερη της μακράς επιβίωσης μετά τη 2^η ύφεση. Στη μελέτη UKALL-XII η 5-ετής επιβίωση των ασθενών της μελέτης μετά την 1^η υποτροπή ήταν μικρότερη από 10%⁴⁷.

Θεραπευτική απόφαση

Η θεραπευτική απόφαση για την επιλογή ή όχι της άλλο-ΜΑΚ σαν την κατάλληλη θεραπεία για τον κάθε ασθενή θα πρέπει να γίνεται εξατομικευμένα. Στην ουσία ο κλινικός ιατρός καλείται να "μαντέψει" το μέλλον ώστε να επιλέξει την αποτελεσματικότερη θεραπεία. Στα πλαίσια αυτά θα πρέπει: 1) να προσδιορίσει ποια είναι η πιθανότητα υποτροπής του ασθενούς εάν αυτός αντιμετωπιστεί συμβατικά και να εκτιμήσει έτσι την πιθανότητα μακράς επιβίωσης χωρίς νόσο, και 2) να προσδιορίσει την θνητότητα και την υποτροπή που σχετίζεται με την άλλο-ΜΑΚ ώστε να εκτιμήσει και την πιθανότητα μακράς επιβίωσης χωρίς νόσο που αναμένεται να έχει εάν υποβληθεί σε άλλο-ΜΑΚ. Στην εκτίμηση θα πρέπει να λάβουμε υπόψη 2 βασικές παραδοχές όπως αναλύθηκε εκτενέστερα στις προηγούμενες παραγράφους και οι οποίες προτείνονται από την ομάδα ELN⁸: 1) Η άλλο-ΜΑΚ μειώνει αναλογικά περίπου στο ήμισυ την πιθανότητα υποτροπής σε κάθε ομάδα κινδύνου (συγκριτικά με την πιθανότητα υποτροπής με την συμβατική θεραπεία), και 2) η θνητότητα που σχετίζεται με την θεραπεία σε ασθενείς που είναι σε ύφεση και λαμβάνουν συμβατική χημειοθεραπεία σαν θεραπεία σταθεροποίησης είναι περίπου 5%. Με βάση τα υπάρχοντα δεδομένα θα επιχειρηθεί η θεραπευτική απόφαση στις περιπτώσεις ασθενών που αναφέρθηκαν στις προηγούμενες παραγράφους.

Περίπτωση 1

Ο ασθενής έχει καρυοτυπική βλάβη που τον κατατάσσει σε ομάδα ευνοϊκής πρόγνωσης. Βέβαια θα πρέπει να έχουμε υπόψη ότι ακόμα και σε αυτή την ομάδα ασθενών η πιθανότητα υποτροπής με τη συμβατική θεραπεία δεν είναι διόλου αμελητέα και προσδιορίζεται στο 40%. Στην περίπτωση του ασθενούς μας θα πρέπει επίσης να ληφθεί υπόψη ότι η ΟΜΛ με $t(8;21)$ δεν έχει την ίδια ευνοϊκή πρόγνωση με την ΟΜΛ με $inv(16)$ παρά το γεγονός ότι και οι 2 κατατάσσονται στην ίδια ομάδα κινδύνου⁴⁸. Επιπλέον ο ασθενής μας είχε υψηλό αριθμό βλαστικών κυττάρων στο περιφερικό αίμα στη διάγνωση (>20.000) και είναι γνωστό από προηγηθείσες μελέτες ότι η πρόγνωση στην ΟΜΛ με $t(8;21)$ επιδεινώνεται όταν οι ασθενείς παρουσιάζουν υψηλό αριθμό λευκών⁴⁹. Με βάση αυτό το στοιχείο ο ασθενής ανήκει στην ενδιάμεση ομάδα κινδύνου κατά ELN και η πιθανότητα υποτροπής του ασθενούς με τη συμβατική θεραπεία προσδιορίζεται περίπου στο 50-55% και η πιθανότητα μακράς επιβίωσης χωρίς νόσο υπολογίζεται περίπου 40-45%. Η άλλο-ΜΑΚ θα μειώσει την πιθανότητα υποτροπής

στο 20-25% αλλά θα αυξήσει την ΝRM. Ο EBMT-Risk Index για τον δεδομένο ασθενή είναι 0 και ο HCT-CI δίνει επίσης score=0, και επομένως η ΝRM στην 2-ετία υπολογίζεται περίπου στο 15%. Επομένως η μακρά επιβίωση χωρίς νόσο για τον ασθενή υπολογίζεται περίπου 60-65% εάν υποβληθεί σε άλλο-ΜΑΚ. Στον ασθενή μας η άλλο-ΜΑΚ προσφέρει ένα 20% βελτίωση στην επιβίωση και επομένως είναι και η θεραπεία εκλογής (Πίνακας 5). Στο παράδειγμα αυτό διαπιστώνουμε ότι ενώ ο ασθενής ανήκει σε ευνοϊκή προγνωστική ομάδα και από μία πρώτη εκτίμηση θα θεωρούσαμε ότι η θεραπεία εκλογής είναι η σταθεροποίηση με HiDAC, προσεκτικότερη και λεπτομερέστερη χρήση των εργαλείων που διαθέτουμε πείθει ότι ο ασθενής αυτός πρέπει να υποβληθεί σε άλλο-ΜΑΚ.

Περίπτωση 2

Η ασθενής έχει φυσιολογικό καρυότυπο και profile μοριακών διαταραχών που την κατατάσσουν σε ομάδα ενδιάμεσου κινδύνου με πιθανότητα υποτροπής περίπου 50-55% με την συμβατική θεραπεία σταθεροποίησης. Η ασθενής αυτή έχει συν-νοσηρότητες και ο HCT-CI δίνει score=2 (διαβήτης, παχυσαρκία).

Πίνακας 5. Θεραπευτική απόφαση

	Συμβατική θεραπεία	Αλλογενής Μεταμόσχευση
σταθεροποίησης		
Περίπτωση 1		
Πιθανότητα υποτροπής	50-55%	20-25%
Πιθανότητα ΝRM	5%	15%
Προσδιορισμός DFS	40-45%	60-65%
DRI και εκτιμώμενη ολική επιβίωση	NA	65% στα 2-έτη
Περίπτωση 2		
Πιθανότητα υποτροπής	50-55%	20-25%
Πιθανότητα ΝRM	5%	30-35%
Προσδιορισμός DFS	40-45%	40-50%
DRI και εκτιμώμενη ολική επιβίωση	NA	50% στα 2-έτη
Περίπτωση 3		
Πιθανότητα υποτροπής	90%	40-45%
Πιθανότητα ΝRM	5%	???
Προσδιορισμός DFS	5%	???
DRI και εκτιμώμενη ολική επιβίωση		???

Συνομογραφίες: Περιγράφονται στο κείμενο

Επίσης ο διαθέσιμος δότης για την ασθενή είναι με 1-B-allele mismatch με αποτέλεσμα αύξηση της NRM κατά 10% περίπου⁵⁰. Ο EBMT-Risk Index για τη δεδομένη ασθενή είναι 3 και επομένως η NRM μετά από άλλο-ΜΑΚ για την ασθενή υπολογίζεται περίπου 30-35%. Επομένως τόσο η συμβατική θεραπεία όσο και η άλλο-ΜΑΚ δίνουν παραπλήσια πιθανότητα μακράς επιβίωσης χωρίς νόσο και στην περίπτωση αυτή ίσως είναι προτιμότερο να αποφύγει κανείς την πρώιμη θνητότητα που σχετίζεται με την άλλο-ΜΑΚ και να επιλέξει τη συμβατική θεραπεία, ενώ η άλλο-ΜΑΚ μπορεί να γίνει σε περίπτωση υποτροπής.

Περίπτωση 3

Ο ασθενής έχει εξαιρετικά δυσμενή πρόγνωση διότι έχει μονοσωμικό καρυότυπο⁵¹. Με βάση αυτό το γεγονός κατατάσσεται στην ομάδα πολύ πτωχής πρόγνωσης με πιθανότητα υποτροπής με την συμβατική θεραπεία που προσεγγίζει το 90%, και με σχεδόν μηδενική πιθανότητα μακράς επιβίωσης χωρίς νόσο. Η άλλο-ΜΑΚ μπορεί θεωρητικά να μειώσει τον κίνδυνο υποτροπής στο 40-45% περίπου και με αποδεκτή τοξικότητα επειδή ο ασθενής δεν παρουσιάζει συν-νοσηρότητες (Πίνακας 5). Η NRM δεν μπορεί να προσδιοριστεί με την χρήση των EBMT-Risk Index και HCT-CI διότι αμφότερα τα προγνωστικά συστήματα έχουν επικυρωθεί σε ομάδες ασθενών που έχουν υποβληθεί σε άλλο-ΜΑΚ με συγγενή ή μη-συγγενή δότη. Αντίθετα όπως βλέπουμε ο ασθενής μιας δεν διαθέτει δότη με αποδεκτή συμβατότητα και επομένως είναι υποψήφιος για άλλο-ΜΑΚ με την χρήση εναλλακτικών πηγών μοσχεύματος, όπως πχ απλοταυτόσημη μεταμόσχευση ή μεταμόσχευση με την χρήση ομφαλίου αίματος. Από τα δεδομένα που παρατίθενται διαπιστώνουμε ότι ακόμα και NRM της τάξης του 40% θα ήταν αποδεκτή αφού θα έδινε στον ασθενή 20% περίπου πιθανότητα μακράς επιβίωσης. Επομένως μεταμόσχευση με εναλλακτική πηγή μοσχεύματος είναι η θεραπεία εκλογής για τον συγκεκριμένο ασθενή.

Περίπτωση 4

Σύμφωνα με τα δεδομένα που αναφέρθηκαν ο ασθενής θα πρέπει να υποβληθεί σε άλλο-ΜΑΚ από μη-συγγενή συμβατό δότη. Η άποψη των συγγραφέων του παρόντος είναι ότι η εκτίμηση της ΕΥΝ στη λήψη θεραπευτικής απόφασης θα πρέπει να γίνεται μόνο στα πλαίσια κλινικής μελέτης. Ο ασθενής έχει νόσο υψηλού κινδύνου επειδή είναι σε ηλικία >35 και η μακρά επιβίωση με συμβατική θεραπεία προσδιορίζεται

περίπου 35%. Ο κίνδυνος από την μεταμόσχευση είναι σχετικά μικρός και επομένως η άλλο-ΜΑΚ θα πρέπει να προταθεί ως η θεραπεία εκλογής στον ασθενή.

Ελαχίστη υπολειπόμενη νόσος και θεραπευτική απόφαση

Σημαντική παράμετρος που καθορίζει την πρόγνωση των ασθενών με ΟΛ είναι η παρακολούθηση της ΕΥΝ. Η χρήση της ΕΥΝ πιθανόν στο μέλλον να αντικαταστήσει πολλούς από τους υπάρχοντες προγνωστικούς παράγοντες και κυρίως να καθορίσει τον χρόνο για τη διενέργεια άλλο-ΜΑΚ. Η ΕΥΝ στη λήψη θεραπευτικής απόφασης καθίσταται ιδιαίτερα σημαντική σε περιπτώσεις ασθενών με ΟΛΛ, ενώ πιστεύεται ότι θα λάβει αντίστοιχη θέση στο προσεχές μέλλον και στην ΟΜΛ. Στο παρόν κείμενο εσκεμμένα αποφύγαμε να θίξουμε το ζήτημα της ΕΥΝ επειδή αυτό αποτελεί αντικείμενο επόμενου κεφαλαίου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Cornelissen JJ, Breems D, van Putten W, Gratwohl AA, Passweg JR, Pabst T, et al. Comparative Analysis of the Value of Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation in Acute Myeloid Leukemia With Monosomal Karyotype Versus Other Cytogenetic Risk Categories. *J Clin Oncol*. 2012; 30: 2140-46.
2. Middeke JM, Beelen D, Stadler M, Göhring G, Schlegelberger B, Baurmann H, et al. Outcome of high-risk acute myeloid leukemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation: negative impact of abn(17p) and -5/5q-. *Blood*. 2012; 120: 2521-8.
3. van Gelder M, de Wreede LC, Schetelig J, van Biezen A, Volin L, Maertens J, et al. Monosomal karyotype predicts poor survival after allogeneic stem cell transplantation in chromosome 7 abnormal myelodysplastic syndrome and secondary acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2013; 27:879-88.
4. Fang M, Storer B, Estey E, Othus M, Zhang L, Sandmaier BM, et al. Outcome of patients with acute myeloid leukemia with monosomal karyotype who undergo hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2011; 118: 1490-94.
5. Pfeiffer T, Schleuning M, Mayer J, Haude KH, Tischer J, Buchholz S, et al. Influence of molecular subgroups on outcome of acute myeloid leukemia with normal karyotype in 141 patients undergoing salvage allogeneic stem cell transplantation in primary induction failure or beyond first relapse. *Haematologica*. 2013; 98:518-25.
6. Brunet S, Labopin M, Esteve J, Cornelissen J, Socié G, Iori AP, et al. Impact of FLT3 internal tandem duplication on the outcome of related and unrelated hematopoietic transplantation for adult acute myeloid leukemia in first remission: a retrospective analysis. *J Clin Oncol*. 2012;

- 30:735-41.
7. Schmid C, Labopin M, Socié G, Daguindau E, Volin L, Huynh A, et al. Outcome and risk factor analysis of molecular subgroups in cytogenetically normal AML treated by allogeneic transplantation. *Blood*. 2015; 126:2062-9.
 8. Cornelissen JJ, Gratwohl A, Schlenk R.F, Sierra J, Bornhäuser M, Juliusson G, et al. The European Leukemia Net AML Working Party consensus statement on allogeneic HSCT for patients with AML in remission: an integrated-risk adapted approach. *Nat Rev Clin Oncol*. 2012; 9: 579-590.
 9. Duval M, Klein J, He W, Cahn JY, Cairo M, Camitta BM, et al. Hematopoietic Stem-Cell Transplantation for Acute Leukemia in Relapse or Primary Induction Failure. *J Clin Oncol*. 2010; 28: 3730-3738.
 10. Armistead P, de Lima M, Pierce S, Qiao W, Wang X, Thall PF, et al. Quantifying the survival benefit for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in relapsed acute myelogenous leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009; 15: 1431–1438.
 11. Craddock C, Labopin M, Pillai S, Finke J, Bunjes D, Greinix H, et al. Factors predicting outcome after unrelated donor stem cell transplantation in primary refractory acute myeloid leukaemia. *Leukemia*. 2011; 25:808-13
 12. Leung W, Pui CH, Coustan-Smith E, Yang J, Pei D, Gan K, et al. Detectable minimal residual disease before hematopoietic cell transplantation is prognostic but does not preclude cure for children with very-high-risk leukemia. *Blood*. 2012; 120:468-72.
 13. Laane E, Derolf AR, Bjorklund E, Mazur J, Everaus H, Söderhäll S, et al. The effect of allogeneic stem cell transplantation on outcome in younger acute myeloid leukemia patients with minimal residual disease detected by flow cytometry at the end of post-remission chemotherapy. *Haematologica*. 2006; 91:833–6.
 14. Walter RB, Gooley T, Wood B, Milano F, Fang M, Sorror ML, et al. Impact of Pretransplantation Minimal Residual Disease, As Detected by Multiparametric Flow Cytometry, on Outcome of Myeloablative Hematopoietic Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 2011; 29:1190-97.
 15. Walter RB, Gyurkocza B, Storer BE, Godwin CD, Pagel JM, Buckley SA, et al. Comparison of minimal residual disease as outcome predictor for AML patients in first complete remission undergoing myeloablative or nonmyeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Leukemia*. 2015; 29:137-44.
 16. Goldstone AH, Richards SM, Lazarus HM, Tallman MS, Buck G, Fielding AK, et al. In adults with standard-risk acute lymphoblastic leukemia, the greatest benefit is achieved from a matched sibling allogeneic transplantation in first complete remission, and an autologous transplantation is less effective than conventional consolidation/maintenance chemotherapy in all patients: final results of the International ALL Trial (MRC UKALL XII/ECOG E2993). *Blood*. 2008; 111:1827-33.
 17. Rowe J, Buck G, Burnett A, Chopra R, Wiernik PH, Richards SM, et al. Induction therapy for adults with acute lymphoblastic leukemia: results of more than 1500 patients from the international ALL trial: MRC UKALLXII/ECOG E2993. *Blood*. 2005;106:3760-3767.
 18. Ram R, Storb R, Sandmaier BM, Maloney DG, Woolfrey A, Flowers ME, et al. Non-myeloablative conditioning with allogeneic hematopoietic cell transplantation for the treatment of high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2011;96:1113-20.
 19. Marks DI, Moorman AV, Chilton L, Paietta E, Enshaie A, DeWald G, et al. The clinical characteristics, therapy and outcome of 85 adults with acute lymphoblastic leukemia and t(4;11)(q21;q23)/MLL-AFF1 prospectively treated in the UKALLXII/ECOG2993 trial. *Haematologica*. 2013; 98:945-52.
 20. Boer JM, Koenders JE, van der Holt B, Exalto C, Sanders MA, Cornelissen JJ, et al. Expression profiling of adult acute lymphoblastic leukemia identifies a BCR-ABL1-like subgroup characterized by high non-response and relapse rates. *Haematologica*. 2015;100:e261-4.
 21. Sutton R, Shaw PJ, Venn NC, Law T, Dissanayake A, Kilo T, et al. Persistent MRD before and after allogeneic BMT predicts relapse in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2015;168:395-404.
 22. Gandemer V, Pochon C, Oger E, Dalle JH, Michel G, Schmitt C, et al. Clinical value of pre-transplant minimal residual disease in childhood lymphoblastic leukaemia: the results of the French minimal residual disease-guided protocol. *Br J Haematol*. 2014;165:392-401.
 23. Gökbuğet N, Kneba M, Raff T, Trautmann H, Bartram CR, Arnold R, et al. Adult patients with acute lymphoblastic leukemia and molecular failure display a poor prognosis and are candidates for stem cell transplantation and targeted therapies. *Blood*. 2012;120:1868-76.
 24. Lee S, Kim YJ, Chung NG, Lim J, Lee DG, Kim HJ, et al. The extent of minimal residual disease reduction after the first 4-week imatinib therapy determines outcome of allogeneic stem cell transplantation in adults with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*. 2009;115:561-70.
 25. Brisco J, Hughes E, Neoh SH, Sykes PJ, Bradstock K, Enno A, et al. Relationship between minimal residual disease and outcome in adult acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 1996;87:5251-6.
 26. Armand P, Gibson CJ, Cutler C, Ho VT, Koreth J, Alyea EP, et al. A disease risk index for patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2012;120:905-13.
 27. Slack JL, Dueck AC, Fauble VD, Sproat LO, Reeder CB, Noel P, et al. Reduced toxicity conditioning and allogeneic stem cell transplantation in adults using fludarabine, carmustine, melphalan, and antithymocyte globulin: outcomes depend on disease risk index but not age, comorbidity score, donor type, or human leukocyte antigen mismatch. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013;19:1167-74.

28. Thanarajasingam G, Kim HT, Cutler C, Ho VT, Koreth J, Alyea EP, et al. Outcome and prognostic factors for patients who relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013;19:1713-8.
29. Armand P, Kim H, Logan B, Wang Z, Alyea EP, Kalaycio ME, et al. Validation and refinement of the Disease Risk Index for allogeneic stem cell transplantation. *Blood.* 2014;123:3664-71.
30. Weisdorf D, Hakke R, Blazar BR, Miller W, McGlave P, Ramsay N, et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease in histocompatible donor bone marrow transplantation. *Transplantation* 1991;51:1197-203.
31. Doney K, Fisher L, Appelbaum FR, Buckner CD, Storb R, Singer J, et al. Treatment of adult acute lymphoblastic leukaemia with allogeneic bone marrow transplantation. Multivariate analysis of factors affecting acute graft-versus-host disease, relapse, and relapse-free survival. *Bone Marrow Transpl* 1991;7:453-9.
32. Shapira MY, Tsigotis P, Resnick I.B, Or R, Abdul Hai A, Slavin S. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in the elderly. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2007;64:49-63.
33. Robin M, Guardiola P, Dombret H, Baruchel A, Esperou H, Ribaud P, et al. Allogeneic bone marrow transplantation for acute myeloblastic leukaemia in remission: risk factors for long term morbidity and mortality. *Bone Marrow Transpl.* 2003;31:877-87.
34. Golberg SL, Klumpp TR, Magdalinski AJ, Mangan KF. Value of the pre-transplant evaluation in predicting toxic 100-day mortality among blood stem cell and bone marrow recipients. *J Clin Oncol* 1998;16:3796-802.
35. Fujimaki K, Maruta A, Yoshida M, Sakai R, Tanabe J, Koharazawa H, et al. Severe cardiac toxicity in haematological stem cell transplantation: predictive value of reduced left ventricular ejection fraction. *Bone Marrow Transpl* 2001;27:307-10.
36. McDonald GB, Hinds MS, Fisher LD, Schoch HG, Wolford JL, Banaji M, et al. Venous-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. *Ann Intern Med* 1993;118:255-67.
37. Gruss E, Bernis C, Tomas JF, Garcia-Canton C, Figuera A, Motellón JL, et al. Acute renal failure in patients following bone marrow transplantation: prevalence, risk factors and outcome. *Am J Nephrol* 1995;15:473-9.
38. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis.* 1987;40:373-83.
39. Sorror ML, Maris MB, Storer B, Sandmaier BM, Diaconescu R, Flowers C, et al. Comparing morbidity and mortality of HLA-matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative and myeloablative conditioning: influence of pretransplant comorbidities. *Blood.* 2004;104:961-8.
40. Diaconescu R, Flowers CR, Storer B, Sorror ML, Maris MB, Maloney DG, et al. Morbidity and mortality with nonmyeloablative compared to myeloablative conditioning before hematopoietic cell transplantation from HLA matched related donors. *Blood.* 2004;104:1550-58.
41. Sorror M, Maris M, Storb R, Baron F, Sandmaier B, Maloney D, et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood.* 2005;106:2912-9.
42. Michelis FV, Messner HA, Atenafu EG, McGillis L, Lambie A, Uhm J, et al. Patient age, remission status and HCT-CI in a combined score are prognostic for patients with AML undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation in CR1 and CR2. *Bone Marrow Transplant.* 2015;50:1405-10.
43. Sorror ML, Logan BR, Zhu X, Rizzo JD, Cooke KR, McCarthy PL, et al. Prospective Validation of the Predictive Power of the Hematopoietic Cell Transplantation Comorbidity Index: A Center for International Blood and Marrow Transplant Research Study. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;21:1479-87.
44. Gratwohl A, Stern M, Brand R, Apperley J, Baldomero H, de Witte T, et al. Risk Score for Outcome After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Cancer* 2009;115:4715-26
45. Forman S, Rowe J. The myth of the second remission of acute leukemia in the adult. *Blood.* 2013;121:1077-1082
46. Gökbuget N, Stanze D, Beck J, Diedrich H, Horst HA, Hüttmann A, et al. Outcome of relapsed adult lymphoblastic leukemia depends on response to salvage chemotherapy, prognostic factors, and performance of stem cell transplantation. *Blood.* 2012;120:2032-41.
47. Fielding AK, Richards SM, Chopra R, Lazarus HM, Litzow MR, Buck G, et al. Outcome of 609 adults after relapse of acute lymphoblastic leukemia (ALL); an MRC UKALL12/ECOG 2993 study. *Blood.* 2007;109:944-50.
48. Marcucci G, Mrózek K, Ruppert AS, Maharry K, Kolitz JE, Moore JO, et al. Prognostic factors and outcome of core binding factor acute myeloid leukemia patients with t(8;21) differ from those of patients with inv(16): a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol.* 2005;23:5705-17.
49. Hoyos M, Nomdedeu J, Esteve J, Duarte R, Ribera J, Llorente A, et al. Core binding factor acute myeloid leukemia: The impact of age, leukocyte count, molecular findings, and minimal residual disease. *Eur J Haematol.* 2013;91:209-18.
50. Lee SJ, Klein J, Haagenson M, Baxter-Lowe LA, Confer DL, Eapen M, et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood.* 2007;110:4576-483.
51. Brands-Nijenhuis AV, Labopin M, Schouten HC, Volin L, Socié G, Cornelissen JJ, et al. Monosomal karyotype as an adverse prognostic factor in patients with acute myeloid leukemia treated with allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in first complete remission: a retrospective survey on behalf of the ALWP of the EBMT. *Haematologica.* 2016;101:248-55.

Ελάχιστη Υπολειμματική Νόσος: Η σημασία της για την επιλογή και το σχεδιασμό της μεταμόσχευσης

ΖΩΗ ΜΠΟΥΣΙΟΥ, ΙΩΑΝΝΗΣ ΜΠΑΤΣΗΣ

Αιματολογική Κλινική-ΜΜΜΟ. Γ.Ν. “Γ. Παπανικολάου”, Θεσσαλονίκη

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Με επαναλαμβανόμενες εντατικές χημειοθεραπείες μπορεί να επιτευχθεί πλήρης μορφολογική ύφεση (ποσοστό άωρων κυττάρων <5%) σε υψηλό ποσοστό ασθενών που πάσχουν από οξείες λευχαιμίες. Εάν δεν συνεχισθεί η χορήγηση θεραπειών, η πλειονότητα των ασθενών θα υποτροπιάσει, γεγονός που καταδεικνύει την αδυναμία της κυτταρομορφολογίας να εντοπίσει όλο το φορτίο των λευχαιμικών κυττάρων. Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί διάφορες διαγνωστικές τεχνικές, που σκοπό έχουν να ανιχνεύουν, να μετρούν και να παρακολουθούν ελάχιστη υπολειμματική νόσο (Minimal Residual Disease, MRD), αδράτη στο εκπαιδευμένο μάτι, ασθενών σε μορφολογική ύφεση. Φυσικά ο όρος ελάχιστη υπολειμματική νόσος είναι κάπως παραπλανητικός λαμβάνοντας υπόψη ότι ασθενείς σε μορφολογική ύφεση μπορεί να φέρουν φορτίο 10^{10} έως 10^{11} λευχαιμικά κύτταρα¹. Η δυνατότητα παρακολούθησης της MRD σε διάφορα χρονικά σημεία μετά την επίτευξη μορφολογικής ύφεσης αποτελεί ένα ισχυρό όπλο στον καθορισμό των επόμενων θεραπευτικών επιλογών. Στα πλαίσια αυτά, η MRD μπορεί να κατευθύνει τον κλινικό ιατρό στον καθορισμό της θέσης της μεταμόσχευσης στον θεραπευτικό αλγόριθμο αλλά και στη διαμόρφωση προ- και μετα-μεταμοσχευτικών χειρισμών.

Η έννοια και ο προσδιορισμός της MRD

Η βαρύτητα του καθορισμού του λευχαιμικού φορτίου πηγάζει από τη στενή συσχέτιση μεταξύ του φορτίου νόσου και της πιθανότητας επακόλουθης

υποτροπής². Διάφορες στρατηγικές έχουν σχεδιασθεί για την ταυτοποίηση του λευχαιμικού φορτίου εντός του φυσιολογικού αιμοποιητικού ιστού βασιζόμενες σε δομικές ή αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες, σε ανώμαλη έκφραση γονιδίων, σε αναδιατάξεις του υποδοχέα του αντισώματος, σε μεταλλάξεις γονιδίων και σε ανοσοφαινοτυπικές ανωμαλίες¹. Για να είναι αξιόπιστη μια τεχνική MRD θα πρέπει να ταυτοποιεί τα κακοήθη κύτταρα με μεγάλη ευαισθησία (τουλάχιστον 10^{-3} και ιδεατά 10^{-6}) και ειδικότητα καθ' όλη την πορεία της νόσου, να είναι αναπαραγωγίμη και να επιτρέπει την εύκολη τυποποίηση της μεταξύ διαφορετικών εργαστηρίων. Παρότι κάθε τεχνική εμφανίζει κάποιους περιορισμούς, η κλινική εφαρμογή της πολυπαραμετρικής κυτταρομετρίας ροής (Multiparameter Flow Cytometry, MFC) καθώς και της PCR τεχνικής είναι καλά τεκμηριωμένη. Η ανάγκη μεγιστοποίησης της ευαισθησίας των MRD τεχνικών, έχει οδηγήσει τα τελευταία χρόνια στη χρήση της αλληλούχισης νεότερης γενιάς (Next Generation Sequencing-NGS) για την ταυτοποίηση αναδιατάξεων του υποδοχέα ανοσοσφαιρινών σε λευχαιμικό κλώνο ασθενών με Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία (ΟΛΛ)³. Για να αξιολογήσει την ευαισθησία της NGS-MRD έναντι της MFC-MRD, μια πολυκεντρική αμερικανική ομάδα εφάρμοσε NGS τεχνική για εντοπισμό αναδιατάξεων της βαρείας αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών σε 58 ασθενείς που είχαν ενταχθεί στην κλινική μελέτη ASCT0431. Από τα αποτελέσματα της μελέτης επιβεβαιώθηκε ότι η NGS-MRD υπερέχει έναντι της MFC-MRD, στατιστικώς σημαντικά, ($p < 0,0001$) στο σκέλος της υποτροπής και της ολικής επιβίωσης, ιδιαίτερα

στην περίπτωση MRD αρνητικών αποτελεσμάτων (NGS-MRD αρνητική: υποτροπή:0%, έναντι 16% σε MFC-MRD αρνητική, $p<0,02$). Η ανίχνευση θετικής NGS-MRD μετά την αλλογενή μεταμόσχευση εντοπίζει ασθενείς με υψηλότερη πιθανότητα υποτροπής έναντι της θετικής MFC-MRD ($p<0,0001$) ιδιαίτερα πρώιμα μετά-μεταμοσχευτικά (ημέρα +30, θετική MFC-MRD, πιθανότητα υποτροπής: 35%, έναντι 67% με θετική NGS-MRD, $p<0,004$)⁴.

Η θέση της αλλογενούς μεταμοσχευσης με γνώμονα την MRD

Η αλλογενής μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation-alloHSCT) αποτελεί τη μόνη θεραπευτική επιλογή με δυνατότητα ίασης σε ασθενείς που πάσχουν από αιματολογικές κακοήθειες. Οι σημαντικές επιπλοκές όμως που μπορεί να τη συνοδεύουν, με αποτέλεσμα την υψηλή θνητότητα σχετιζόμενη με την θεραπεία (Treatment Related Mortality-TRM), καθιστούν την επιλογή της αποτέλεσμα συνεκτίμησης πολλών δεικτών, όπως οι προγνωστικοί παράγοντες κατά τη διάγνωση (καρυότυπος, μοριακοί δείκτες, ταχεία απάντηση στη θεραπεία), η ηλικία του ασθενούς καθώς και οι συνοδές παθήσεις που μπορεί αυτός να φέρει. Κατά πόσο όμως η αξιολόγηση της MRD μετά την έναρξη των θεραπειών μπορεί να τροποποιήσει τον θεραπευτικό αλγόριθμο και να αλλάξει τη θέση της alloHSCT; Πρόσφατη μελέτη που διενεργήθηκε από τη Βρετανική ομάδα που ασχολείται με την οξεία μυελοβλαστική λευχαιμία (OML), αξιολόγησε αναδρομικά τη βαρύτητα μοριακής ανίχνευσης του NPM1 σε ασθενείς που έπασχαν από OML και έλαβαν εντατική θεραπεία, όσον αφορά το σκέλος της υποτροπής και της ολικής επιβίωσης⁵. Παρουσία μεταλλαγμένων αντιγράφων του NPM1 παρατηρήθηκε στο 15% των ασθενών μετά τον δεύτερο κύκλο χημειοθεραπείας και συνοδεύονταν από στατιστικώς σημαντική επιβάρυνση στην πιθανότητα υποτροπής καθώς και στην ολική επιβίωση έναντι των ασθενών που δεν είχαν τη μετάλλαξη (υποτροπή:82% έναντι:30%, ολική επιβίωση:24% έναντι 75%, $p<0,0001$). Η θετική MRD αποτέλεσε τον μόνο ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη σχετικά με την πιθανότητα υποτροπής και θανάτου σύμφωνα με τα αποτελέσματα της πολυπαράγοντικής ανάλυσης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ίδιας μελέτης, ασθενείς με θετική MRD και αρνητικούς τους γνωστούς επιβαρυντικούς μοριακούς δείκτες κατά τη διάγνωση (FLT3-ITD, DNMT3A), είχαν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη πιθανότητα υποτροπής έναντι ασθενών με τους ίδιους δείκτες και αρνητική MRD (76% έναντι

33%, $p<0,0001$), θέτοντας έτσι τον προβληματισμό εάν η alloHSCT θα μπορούσε να αποτελέσει άμεση θεραπευτική επιλογή για ασθενείς με θετική MRD. Αντίθετα, ασθενείς με θετικούς και τους δύο δυσμενείς μοριακούς προγνωστικούς δείκτες κατά τη διάγνωση και αρνητική MRD μετά το δεύτερο κύκλο χημειοθεραπείας είχαν πιθανότητα τριετούς επιβίωσης 70%, καθιστώντας έτσι, πιθανόν, επισφαλή τη διενέργεια της αλλογενούς μεταμόσχευσης σε αυτή την ομάδα των ασθενών. Άλλη μελέτη αξιολόγησε την πορεία ασθενών με OML και $t(8;21)$ με βάση την MRD που μετρήθηκε με τα επίπεδα αντιγράφων RUNX1/RUNX1T1 μετά το δεύτερο κύκλο σταθεροποίησης⁶. Οι ασθενείς με θετική MRD που υποβλήθηκαν σε alloHSCT υπερέιχαν στατιστικώς σημαντικά έναντι των ασθενών που συνέχισαν με χορήγηση χημειοθεραπείας όσον αφορά το σκέλος της υποτροπής και της επιβίωσης χωρίς πρόοδο νόσου (Disease Free Survival-DFS): 22%vs78,9% ($p<0,0001$), 61,7%vs19,6% ($p<0,001$). Πρόσφατη μελέτη αξιολόγησε τη θέση της alloHSCT σε ενήλικες ασθενείς που έπασχαν από Ph αρνητική OΛΛ, έλαβαν εντατικοποιημένο πρωτόκολλο παιδιών και ήταν σε πλήρη μορφολογική ύφεση⁷. Ο έλεγχος της MRD έγινε με MFC και MRD θετικοί ορίστηκαν ασθενείς με $MRD>10^{-3}$ μετά την πρώτη θεραπεία εφόδου. Από τα αποτελέσματα της μελέτης διαπιστώθηκε ότι η alloHSCT δεν υπερέιχε της συμβατικής χημειοθεραπείας σε όλα τα σκέλη των ασθενών, πιθανόν λόγω της εντατικής θεραπείας που έλαβαν οι ασθενείς. Αντίθετα, στην υποομάδα των ασθενών με θετική MRD η alloHSCT υπερέιχε στατιστικώς σημαντικά έναντι της συμβατικής χημειοθεραπείας στο σκέλος της DFS. Από τα αποτελέσματα των προαναφερθέντων μελετών φαίνεται ότι η αξιολόγηση της MRD πιθανόν είναι κριτικής σημασίας σχετικά με τη θέση της alloHSCT στον θεραπευτικό αλγόριθμο των αιματολόγων.

Η MRD ως προγνωστικός δείκτης της alloHSCT

Γνωρίζουμε ότι τα αποτελέσματα της alloHSCT διαφέρουν σημαντικά για ασθενείς που πάσχουν από OML και υποβάλλονται σε μεταμόσχευση με ενεργή νόσο έναντι αυτών που βρίσκονται σε πλήρη μορφολογική ύφεση. Κατά πόσο όμως η τελευταία ομάδα ασθενών αποτελεί ενιαία ομάδα με βάση την MRD; Μεγάλη αναδρομική μελέτη που διενεργήθηκε από την ομάδα του Fred Hutchinson, αξιολόγησε την πορεία 359 ασθενών που έπασχαν από OML, και υποβλήθηκαν σε alloHSCT με χρήση μυελοαφανιστικού σχήματος από το 2006 έως το 2014⁸. Στους ασθενείς γίνονταν προμεταμοσχευτικά έλεγχος της MRD

με MFC 10 χρωμάτων σε δείγματα μυελού. Από τα αποτελέσματα της μελέτης διαπιστώθηκε ότι η υποτροπή στα 3 έτη ήταν παρόμοια μεταξύ των ασθενών με ενεργή νόσο κατά τη φάση της μεταμόσχευσης και αυτών σε μορφολογική ύφεση αλλά θετική MRD (65% και 67%) και υστερούσε στατιστικώς σημαντικά έναντι των ασθενών με αρνητική MRD (22%). Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα και για την 3-ετή OS. Από την πολυπαραγοντική ανάλυση της μελέτης, η αρνητική MRD αποτέλεσε ανεξάρτητο και στατιστικώς σημαντικό παράγοντα για υψηλότερη OS και DFS έναντι ασθενών με ενεργή νόσο ή θετική MRD. Οι δύο τελευταίες ομάδες ασθενών είχαν παρόμοια αποτελέσματα. Περιορισμός βέβαια της μελέτης είναι ο αναδρομικός χαρακτήρας της, καθώς και το γεγονός ότι το σχήμα προετοιμασίας ήταν διαφορετικό με βάση το φορτίο νόσου. Περίπου 20-25% των ασθενών που πάσχουν από OML και υποβάλλονται σε alloHSCT σε μορφολογική ύφεση φέρουν θετική MRD⁹. Κατά πόσο η αλλογενής μεταμόσχευση μπορεί να εξασφαλίσει υψηλά ποσοστά ίασης σε αυτή την ομάδα των ασθενών; Αναδρομική μελέτη αξιολόγησε τη σημασία της δυναμικής της MRD προ και μετά-μεταμοσχευτικά σε ασθενείς που έπασχαν από OML, υποβλήθηκαν σε alloHSCT, και μετρήθηκε η MRD με κυτταρομετρία ροής 10 χρωμάτων προμεταμοσχευτικά και την +28 (± 7) ημέρα¹⁰. Από τα αποτελέσματα επιβεβαιώνεται η έξοχη πορεία ασθενών MRD^{apv}/MRD^{apv} (3-ετή OS:75%, 3-ετή DFS:71%) αλλά διαπιστώνεται παράλληλα ότι η πορεία των MRD^{bet}/MRD^{apv} ασθενών είναι παρόμοια με την πορεία των MRD^{bet}/MRD^{bet} ασθενών (3-ετή OS, DFS: 29%, 18% έναντι 19% και 14%). Από την πολυπαραγοντική ανάλυση της ίδιας μελέτης μόνο η MRD προ- και όχι η MRD μετά- αποτέλεσε ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για την OS και την υποτροπή. Πιθανόν λοιπόν για ασθενείς με θετική MRD προμεταμοσχευτικά πρέπει να γίνονται έγκαιρα θεραπευτικοί χειρισμοί όπως θα δούμε και στη συνέχεια. Το γεγονός ότι τα αποτελέσματα της προηγούμενης μελέτης υποβαθμίζουν την αξία της MRD μετά-μεταμοσχευτικά έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της πλειονότητας των μελετών που καθιστούν την MRD μετά- ισχυρό προγνωστικό δείκτη για την έκβαση των ασθενών. Πιθανή εξήγηση της δυσαρμονίας των αποτελεσμάτων αποτελεί το γεγονός ότι αξιολογεί την MRD πολύ πρώιμα μετά τη μεταμόσχευση. Πράγματι, προοπτική μελέτη που δημοσιεύθηκε πρόσφατα και διενεργήθηκε από τη Γερμανική ομάδα της μεταμόσχευσης στην OLL (ALL BFM-SCT) αξιολόγησε την MRD σε διάφορα χρονικά σημεία για παιδιά που έπασχαν από OLL και υποβλήθηκαν σε αλλογενή μεταμόσχευση¹¹. Από την

πολυπαραγοντική ανάλυση της μελέτης διαπιστώθηκε ότι θετική MRD ($\geq 10^{-4}$) σε οποιοδήποτε χρονικό σημείο μετά την alloHSCT αποτελεί στατιστικώς σημαντικό παράγοντα σχετιζόμενο με μειωμένη DFS ($p < 0,0001$). Στη μελέτη όμως αποτυπώνεται και η αυξημένη προγνωστική σημασία της MRD σχετικά με την πιθανότητα υποτροπής όσο η MRD διενεργείται αργότερα από τη μεταμόσχευση. Έτσι θετική MRD την +30 ημέρα προδικάζει πιθανότητα υποτροπής 70,9% στο μήνα, έναντι 96,1% για θετική MRD την +60, 98,9% την +90 και 99,8% την +180 ημέρα. Από τις προαναφερθείσες αλλά και από πληθώρα άλλων μελετών¹²⁻¹⁵, επιβεβαιώνεται η προγνωστική βαρύτητα της MRD στην έκβαση ασθενών που πάσχουν από οξείες λευχαιμίες και υποβάλλονται σε αλλογενή μεταμόσχευση. Με γνώμονα λοιπόν την MRD μπορεί οι μεταμοσχευτές να τροποποιήσουν τη στρατηγική των θεραπευτικών τους κινήσεων με παρεμβάσεις προ και μετά-μεταμοσχευτικά.

Προμεταμοσχευτικές παρεμβάσεις με γνώμονα την MRD

Με βάση τα προαναφερθέντα είναι σαφές ότι η παραμονή θετικής MRD μετά τα σχήματα εφόδου και σταθεροποίησης περιορίζει τα αποτελέσματα της alloHSCT και δυσχεραίνει την αλλοαντιδραστικότητα του μοσχεύματος έναντι του κακοήθους κλώνου να εξασφαλίσει την ίαση του ασθενούς. Επιθυμητό λοιπόν είναι να περιορισθεί, όσο είναι δυνατόν, το φορτίο της νόσου πριν τη διενέργεια της αλλογενούς μεταμόσχευσης. Η συνέχιση σχημάτων χημειοθεραπείας με φάρμακα με παρόμοιο μηχανισμό δράσης με τα προηγούμενα που χορηγήθηκαν, πιθανόν έχει περιορισμένο προσδοκώμενο όφελος και σίγουρα αυξάνει την τοξικότητα με συνέπεια, πολλές φορές να καθιστά τον ασθενή ακατάλληλο για μεταμόσχευση. Αντίθετα, η χορήγηση φαρμάκων με διαφορετικό μηχανισμό δράσης πιθανόν να εξασφαλίζει με υψηλή πιθανότητα τη μείωση του φορτίου και να μεγιστοποιεί έτσι το προσδοκώμενο όφελος από την αλλογενή μεταμόσχευση. Από πολύ νωρίς φάνηκε ότι η προσθήκη TKIs στα χημειοθεραπευτικά σχήματα ασθενών που πάσχουν από Ph+ OLL μπορεί να συνεισφέρει προς την κατεύθυνση αυτή. Το 2003 δημοσιεύθηκε μελέτη όπου επιβεβαιώθηκε ότι η χορήγηση Imatinib μειώνει σημαντικά το φορτίο νόσου των ασθενών και εξασφαλίζει βαθύτερες μοριακές υφέσεις, μεγιστοποιώντας έτσι το αποτέλεσμα της alloHSCT¹⁶. Πρόσφατα η Ιαπωνική ομάδα μεταμόσχευσης αξιολόγησε αναδρομικά την προσθήκη του Imatinib στα χημειοθεραπευτικά σχήματα ασθενών

με Ph OΛΛ¹⁷. Από τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκε ότι η προσθήκη του Imatinib αρνητικοποιεί την MRD σε υψηλό ποσοστό ασθενών προ alloHSCT (64%). Από την πολυπαραγοντική ανάλυση της ίδιας μελέτης διαπιστώθηκε ότι η MRD και η ηλικία του ασθενούς αποτέλεσαν τους μόνους στατιστικώς σημαντικούς δείκτες που επηρεάζουν την OS μετά την alloHSCT. Πολυκεντρική γερμανική μελέτη φάσης II αξιολόγησε την προσθήκη του Blinatumomab στα θεραπευτικά σχήματα ασθενών με B-OΛΛ και θετική MRD¹⁸. Δεκάξι από τους 21 ασθενείς που μπήκαν στη μελέτη αρνητικοποίησαν την MRD μετά το πρώτο κύκλο θεραπείας με Blinatumomab. Όσοι από τους ασθενείς με αρνητική MRD είχαν συμβατό δότη οδηγήθηκαν άμεσα στη διενέργεια της αλλογενούς μεταμόσχευσης. Οχτώ ασθενείς υποβλήθηκαν σε alloHSCT και όλοι παραμένουν σε πλήρη ύφεση. Η πιο συχνή, βαθμού III-IV ανεπιθύμητη ενέργεια ήταν η λεμφοπενία. Δυσαρμονία εμφανίζουν τα αποτελέσματα των μελετών που αξιολογούν την ένταση του σχήματος προετοιμασίας σχετικά με τη παρουσία θετικής MRD προ alloHSCT. Έτσι η ομάδα της Μινεσότα σε αναδρομική μελέτη διαπιστώνει ότι η παρουσία θετικής MRD επηρεάζει αρνητικά και στατιστικώς σημαντικά ασθενείς που έλαβαν μειωμένης έντασης σχήμα (Reduced Intensity Conditioning-RIC) όσο αφορά την OS και την DFS σε αντίθεση με ασθενείς που έλαβαν μυελοαφανιστικό σχήμα¹⁹. Αντίθετα, η ομάδα του Σιάτλ σε άλλη αναδρομική μελέτη διαπιστώνει ότι η ένταση του σχήματος προετοιμασίας δεν αντιρροπεί την αρνητική επίδραση της θετικής MRD στην έκβαση της alloHSCT⁹. Πιθανή ερμηνεία για την αναντιστοιχία των αποτελεσμάτων αποτελεί ο αναδρομικός χαρακτήρας των μελετών καθώς και ο διαφορετικός ορισμός της μειωμένης έντασης του σχήματος. Πιθανόν όμως σε ασθενείς με θετική MRD και χαμηλό δείκτη συνοδού νοσηρότητας θα πρέπει να χορηγούνται ισχυρά σχήματα προετοιμασίας. Αντίθετα, σε ασθενείς με αρνητική MRD και κυρίως σε αυτούς με συνοδές παθήσεις, θα πρέπει να μειώνεται η ένταση του σχήματος.

Μετα-μεταμοσχευτικές παρεμβάσεις με γνώμονα την MRD

Από την πλειονότητα των μελετών έχει επιβεβαιωθεί η αρνητική επίδραση της θετικής MRD μετά-μεταμοσχευτικά στην έκβαση των ασθενών. Η θεραπευτική στρατηγική στις περιπτώσεις αυτές θα πρέπει να εστιάζει στην ενίσχυση της αλλοαντιδραστικότητας του μοσχεύματος με την έγκαιρη αλλά παράλληλα προσεκτική διακοπή της ανοσοκαταστολής, τη συνοδό χορήγηση λεμφοκυττάρων του δότη

(Donor Lymphocyte Infusion-DLI) και σε δεύτερο χρόνο τη χορήγηση φαρμάκων. Από την ομάδα του Bacigalupo αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα των DLIs σε ασθενείς που έπασχαν από Οξεία Λευχαιμία και εμφάνισαν θετική MRD μετά τη μετάμόσχευση²⁰. Ασθενείς με αρνητική MRD είχαν πιθανότητα υποτροπής 16% έναντι 6% για ασθενείς με θετική MRD που έλαβαν DLI και 63% για ασθενείς με θετική MRD που δεν έλαβαν DLI ($p<0,0001$). Η εκτιμώμενη τριετής OS ήταν 75%, 80%, 26% αντίστοιχα ($p<0,0001$). Η αποτελεσματικότητα όμως των DLIs φαίνεται ότι περιορίζεται όσο υψηλότερο είναι το φορτίο της νόσου. Προς την κατεύθυνση αυτή μπορεί να βοηθήσει η τακτική παρακολούθηση της MRD που μπορεί να επιτρέψει την έγκαιρη χορήγηση DLI. Μελέτη συνέκρινε την προφυλακτική χορήγηση λεμφοκυττάρων (pDLI) με παρουσία θετικής MRD έναντι της θεραπευτικής χορήγησης λεμφοκυττάρων (tDLI) με παρουσία μορφολογικής υποτροπής²¹. Η απάντηση στην ομάδα των ασθενών που έλαβαν pDLI ήταν 100% έναντι 63,6% στην ομάδα που έλαβε tDLI ($p<0,0001$). Η νόσος του μοσχεύματος έναντι του ξενιστή δεν επηρέασε στατιστικώς σημαντικά την πορεία των ασθενών και έτσι η εκτιμώμενη στο έτος OS ήταν 93,8% και 27,3% αντίστοιχα ($p<0,0001$). Η μελέτη RELAZA εκτίμησε τη χορήγηση azacitidine σε ασθενείς που έπασχαν από Μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο ή OΜΛ, υποβλήθηκαν σε alloHSCT και εμφάνισαν πτώση του χιμαιρισμού²². Από τους 20 ασθενείς που έλαβαν azacitidine, οι 16 ανταποκρίθηκαν και οι 10 εξ' αυτών είχαν άνοδο του χιμαιρισμού. Από τα αποτελέσματα όμως της μελέτης φαίνεται ότι σε βάθος χρόνου οι περισσότεροι ασθενείς υποτροπίασαν με συνέπεια να μπορεί να ειπωθεί ότι μόνη της η azacitidine πολύ δύσκολα μπορεί να αποτρέψει την υποτροπή. Προοπτική πολυκεντρική μελέτη αξιολόγησε τη χορήγηση Imatinib με τη παρουσία θετικής MRD μετά από alloHSCT για ασθενείς Ph+ OΛΛ²³. Από τους 27 ασθενείς που έλαβαν Imatinib, οι 14 επανήλθαν σε πλήρη μοριακή ύφεση, ενώ από τους 13 που δεν απάντησαν, οι 12 παρουσίασαν μορφολογική υποτροπή σε διάμεσο διάστημα 3 μηνών. Η εκτιμώμενη στο έτος DFS ήταν 91% για τους ασθενείς που απάντησαν έναντι 8% για αυτούς που δεν απάντησαν ($p<0,0001$). Μελέτη φάσης I/II εκτίμησε την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα της χορήγησης Nilotinib ως προφύλαξη μετά αλλογενή μεταμόσχευση²⁴. Είκοσι δύο ασθενείς έλαβαν Nilotinib σε διάμεσο χρόνο τις 38 ημέρες μετά τη μεταμόσχευση, σε 6 όμως ασθενείς διακόπηκε λόγω πρώιμων επιπλοκών. Από τους 16 ασθενείς που τελικά αξιολογήθηκαν οι 11 πέτυχαν (8) ή συντήρησαν (3) την πλήρη μοριακή ύφεση και με διάμεσο διάστημα

παρακολούθησης τους 46 μήνες, 8 ασθενείς είναι εν ζωή και χωρίς νόσο. Φαίνεται λοιπόν από τα προαναφερθέντα ότι η θετική MRD μετά τη μεταμόσχευση απαιτεί έγκαιρους θεραπευτικούς χειρισμούς οι οποίοι πιθανόν θα πρέπει να είναι και συνδυαστικοί για να εξασφαλίσουν την ίαση του ασθενούς.

Συμπεράσματα

Η εκτίμηση της ελάχιστης υπολειμματικής νόσου σε διάφορα χρονικά σημεία κατά την πορεία του ασθενούς αποτελεί ένα ισχυρό όπλο στη φαρέτρα των αιματολόγων και επιτρέπει την επιλογή των κατάλληλων θεραπευτικών επιλογών ώστε να εξασφαλίζεται το μέγιστο προσδοκώμενο όφελος προς τους ασθενείς. Η βελτίωση, με την πάροδο των χρόνων, των τεχνικών που εφαρμόζονται εξασφαλίζει υψηλή ευαισθησία και αξιοπιστία και καθιστά την MRD πολύτιμο σύμβουλο για τις θεραπευτικές μας κινήσεις. Η αλλογενής μεταμόσχευση αποτελεί τη μόνη θεραπευτική επιλογή με προοπτική ίασης και πιθανόν η συνεκτίμηση της MRD μαζί με τους άλλους γνωστούς προγνωστικούς δείκτες, τροποποιήσει τη θέση της στο θεραπευτικό αλγόριθμο των αιματολόγων. Η τακτική παρακολούθηση της MRD προ και μετά-μεταμοσχευτικά επιτρέπει τον έγκαιρο εντοπισμό ασθενών υψηλού κινδύνου και δίνει στον μεταμοσχευτή τη δυνατότητα χειρισμών που θα αποτρέψουν την υποτροπή και θα εξασφαλίσουν το μέγιστο προσδοκώμενο όφελος για τον ασθενή. Η επικύρωση βέβαια όλων των προαναφερθέντων πρέπει να γίνει μέσα από τα αποτελέσματα μεγάλων προοπτικών τυχαιοποιημένων μελετών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ryan DH, van Dongen JJM. Detection of residual disease in acute leukemia using immunological markers. In: Bennett JM, Foon KA (eds). *Immunologic Approaches to the Classification and Management of Lymphomas and Leukemias*. 1988/01/01 edn, vol. 38 Kluwer Academic Publishers: Boston, MA, 1988; pp 173–207.
- Buckley SA, Appelbaum FR, Walter RB. Prognostic and therapeutic implications of minimal residual disease at the time of transplantation in acute leukemia. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48:630-41. Epub 2012/07/25.
- Logan AC, Vashi N, Faham M, Carlton V, Kong K, Buno I, et al. Immunoglobulin and T cell receptor gene high-throughput sequencing quantifies minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia and predicts post-transplantation relapse and survival. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20:1307-13. Epub 2014/04/29.
- Pulsipher MA, Carlson C, Langholz B, Wall DA, Schultz KR, Bunin N, et al. IgH-V(D)J NGS-MRD measurement pre- and early post-allotransplant defines very low- and very high-risk ALL patients. *Blood*. 2015;125:3501-8.
- Ivey A, Hills RK, Simpson MA, Jovanovic JV, Gilkes A, Grech A, et al. Assessment of Minimal Residual Disease in Standard-Risk AML. *N Engl J Med*. 2016;374:422-33. Epub 2016/01/21.
- Zhu H-H, Zhang X-H, Qin Y-Z, Liu D-H, Jiang H, Chen H, et al. MRD-directed risk stratification treatment may improve outcomes of t(8;21) AML in the first complete remission: results from the AML05 multicenter trial. *Blood*. 2013;121:4056-62.
- Dhedin N, Huynh A, Maury S, Tabrizi R, Beldjord K, Asnafi V, et al. Role of allogeneic stem cell transplantation in adult patients with Ph-negative acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2015;125:2486-96.
- Araki D, Wood BL, Othus M, Radich JP, Halpern AB, Zhou Y, et al. Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia: Time to Move Toward a Minimal Residual Disease-Based Definition of Complete Remission? *J Clin Oncol*. 2016;34:329-36. Epub 2015/12/17.
- Walter RB, Gyurkocza B, Storer BE, Godwin CD, Pagel JM, Buckley SA, et al. Comparison of minimal residual disease as outcome predictor for AML patients in first complete remission undergoing myeloablative or nonmyeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Leukemia*. 2015;29:137-44. Epub 2014/06/04.
- Zhou Y, Othus M, Araki D, Wood BL, Radich JP, Halpern AB, et al. Pre- and post-transplant quantification of measurable ('minimal') residual disease via multiparameter flow cytometry in adult acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2016;30:1456-64. Epub 2016/03/26.
- Bader P, Kreyenberg H, von Stackelberg A, Eckert C, Salzmann-Manrique E, Meisel R, et al. Monitoring of minimal residual disease after allogeneic stem-cell transplantation in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia allows for the identification of impending relapse: results of the ALL-BFM-SCT 2003 trial. *J Clin Oncol*. 2015;33:1275-84. Epub 2015/01/22.
- Shayegi N, Kramer M, Bornhauser M, Schaich M, Schetelig J, Platzbecker U, et al. The level of residual disease based on mutant NPM1 is an independent prognostic factor for relapse and survival in AML. *Blood*. 2013;122:83-92. Epub 2013/05/10.
- Sutton R, Shaw PJ, Venn NC, Law T, Dissanayake A, Kilo T, et al. Persistent MRD before and after allogeneic BMT predicts relapse in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2015;168:395-404. Epub 2014/10/15.
- Bastos-Oreiro M, Perez-Corral A, Martinez-Laperche C, Bento L, Pascual C, Kwon M, et al. Prognostic impact of minimal residual disease analysis by flow cytometry in patients with acute myeloid leukemia before and after allogeneic hemopoietic stem cell transplantation. *Eur J Haematol*. 2014;93:239-46. Epub 2014/04/08.
- Balduzzi A, Di Maio L, Silvestri D, Songia S, Bonanomi S, Rovelli A, et al. Minimal residual disease before and after transplantation for childhood acute lymphoblastic

- leukaemia: is there any room for intervention? *Br J Haematol.* 2014;164:396-408. Epub 2014/01/16.
16. Lee S, Kim DW, Kim YJ, Chung NG, Kim YL, Hwang JY, et al. Minimal residual disease-based role of imatinib as a first-line interim therapy prior to allogeneic stem cell transplantation in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2003;102:3068-70. Epub 2003/07/05.
 17. Nishiwaki S, Imai K, Mizuta S, Kanamori H, Ohashi K, Fukuda T, et al. Impact of MRD and TKI on allogeneic hematopoietic cell transplantation for Ph+ALL: a study from the adult ALL WG of the JSHCT. *Bone Marrow Transplant.* 2016;51:43-50. Epub 2015/09/22.
 18. Topp MS, Kufer P, Gokbuget N, Goebeler M, Klingler M, Neumann S, et al. Targeted therapy with the T-cell-engaging antibody blinatumomab of chemotherapy-refractory minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia patients results in high response rate and prolonged leukemia-free survival. *J Clin Oncol.* 2011;29:2493-8. Epub 2011/05/18.
 19. Ustun C, Courville EL, DeFor T, Dolan M, Randall N, Yohe S, et al. Myeloablative, but not Reduced-Intensity, Conditioning Overcomes the Negative Effect of Flow-Cytometric Evidence of Leukemia in Acute Myeloid Leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22:669-75. Epub 2015/11/10.
 20. Dominiotto A, Pozzi S, Miglino M, Albarracin F, Piaggio G, Bertolotti F, et al. Donor lymphocyte infusions for the treatment of minimal residual disease in acute leukemia. *Blood.* 2007;109:5063-4.
 21. Tan Y, Du K, Luo Y, Shi J, Cao L, Zheng Y, et al. Superiority of preemptive donor lymphocyte infusion based on minimal residual disease in acute leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transfusion (Paris).* 2014;54:1493-500. Epub 2014/01/01.
 22. Platzbecker U, Wermke M, Radke J, Oelschlaegel U, Seltmann F, Kiani A, et al. Azacitidine for treatment of imminent relapse in MDS or AML patients after allogeneic HSCT: results of the RELAZA trial. *Leukemia.* 2012;26:381-9. Epub 2011/09/03.
 23. Wassmann B, Pfeifer H, Stadler M, Bornhauser M, Bug G, Scheuring UJ, et al. Early molecular response to posttransplantation imatinib determines outcome in MRD+ Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+ ALL). *Blood.* 2005;106:458-63. Epub 2005/04/09.
 24. Shimoni A, Volchek Y, Koren-Michowitz M, Varda-Bloom N, Somech R, Shem-Tov N, et al. Phase 1/2 study of nilotinib prophylaxis after allogeneic stem cell transplantation in patients with advanced chronic myeloid leukemia or Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Cancer.* 2015;121:863-71. Epub 2014/11/13.

Μη ύπαρξη πλήρως συμβατού δότη: Μεταμόσχευση από εναλλακτικό δότη; Ποιον και πότε

ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ ΚΑΙΣΑΡΗ, ΧΡΙΣΤΙΝΑ ΟΙΚΟΝΟΜΟΠΟΥΛΟΥ, ΙΟΥΛΙΑ ΠΕΡΙΣΤΕΡΗ
M.M.M.O., Γ.Ν. Παίδων “Η Αγία Σοφία”, Αθήνα

Η αλλογενής μεταμόσχευση μυελού αποτελεί την ενδεδειγμένη θεραπεία για πολλούς ασθενείς με λευχαιμία, λέμφωμα, μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο και συγγενή σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας. Μόνο 30% των ασθενών έχουν συγγενή συμβατό αδελφό. Η πιθανότητα ανεύρεσης μη συγγενούς συμβατού δότη κυμαίνεται από 20% έως 70%, ανάλογα με την εθνικότητα του ασθενούς. Εναλλακτική πηγή μοσχεύματος για εκείνους που δεν έχουν πλήρως συμβατό συγγενή ή μη συγγενή δότη αποτελεί ο μη πλήρως συμβατός μη συγγενής δότης, ο απλοαυτόσημος δότης και το ομφαλοπλακουντιακό αίμα. Σήμερα δότης μπορεί να βρεθεί σχεδόν για όλους τους ασθενείς και η απόφαση για τον τύπο του δότη εξαρτάται από παράγοντες που έχουν σχέση με τον ασθενή, το νόσημα και την πρακτική του εκάστοτε μεταμοσχευτικού κέντρου.

Μη πλήρως συμβατός μη συγγενής δότης (Mismatched Unrelated Donor-MMURD)

Ο ιδανικός δότης είναι ο πλήρως HLA συμβατός, γιατί τότε μειώνεται ο κίνδυνος αλλοάνοσων επιπλοκών, που σχετίζονται άμεσα με το βαθμό της ασυμβατότητας. Τέτοιος δότης μπορεί να βρεθεί για το 75% των Καυκάσιων Ευρωπαίων, ενώ για το υπόλοιπο 20% μπορεί να βρεθεί δότης με ασυμβατότητα σε έναν HLA τόπο. Τα τελευταία χρόνια η βελτίωση των μεθόδων της HLA τυποποίησης και η κατανόηση της σημασίας της ανάλυσης των 6 πολυμορφικών HLA τόπων (HLA-A, -B, -C, -DR, -DP, -DQ) οδήγησε σε βελτίωση των αποτελεσμάτων της μεταμόσχευσης από μη συγγενείς δότες. Όταν δεν υπάρχει πλήρως συμβατός δότης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί δότης

με 9/10 συμβατότητα. Σε αυτή την περίπτωση το αλληλίο στο οποίο υπάρχει ασυμβατότητα φαίνεται να έχει σημασία. Ο ρόλος των DP και DQ δεν είναι τόσο σαφής. Το ελάχιστο όριο συμβατότητας είναι το 8/8 με υψηλή ανάλυση για τα HLA-A, -B, -C και -DRB1.

Η πρώτη μελέτη που έδειξε ότι υπάρχει μη επιτρεπτή ασυμβατότητα ήταν αυτή των Petersdorf et, όπου φάνηκε ότι η ασυμβατότητα στο -DRB1 αλληλίο σχετιζόταν σημαντικά με χειρότερη επιβίωση και αυξημένη θνητότητα σχετιζόμενη με τη μεταμόσχευση (TRM) και οξεία νόσο μοσχεύματος κατά ξενιστή (GvHD). Γενικά έχει φανεί ότι η ασυμβατότητα στα HLA τάξης I και στο -DRB1 σχετίζεται με υψηλά ποσοστά οξείας GvHD. Σε μία μελέτη που έγινε στη Γερμανία με 2646 ασθενείς οι οποίοι είχαν τυποποιηθεί με υψηλή ανάλυση για τα HLA-A, -B, -C, -DRB1 και -DQB1 φάνηκε ότι τη μικρότερη επιβίωση είχαν όσοι είχαν ασυμβατότητα στα HLA-A, -B και -DRB1. Επίσης, οι ασθενείς με ασυμβατότητα στο DQB1 είχαν μία τάση για βραχύτερη επιβίωση. Η ασυμβατότητα σε >1 τόπο είχε χειρότερα αποτελέσματα.¹ Όσον αφορά το HLA-C έχει σχετιστεί με μικρότερη επιβίωση, μάλλον λόγω πρόκλησης σοβαρότερης οξείας GvHD.² Η ασυμβατότητα στο HLA-DQ φαίνεται να έχει σημασία στην έκβαση της μεταμόσχευσης μόνο στην περίπτωση που συνυπάρχει με ασυμβατότητα άλλων ενός ή δύο αλληλίων.³ Τέλος, η ασυμβατότητα HLA-DPB1 έχει σχετιστεί με χαμηλότερα ποσοστά υποτροπής, αλλά με αυξημένη TRM και GvHD.⁴

Σημαντικά προβλήματα στη μεταμόσχευση από MMURD είναι η GvHD και η πιθανότητα ανεπάρκειας του μοσχεύματος. Η πιθανότητα αυτή είναι 10% και είναι σημαντικά μεγαλύτερη από αυτή που παρατηρείται στην περίπτωση πλήρως συμβατού συγγε-

νούς ή μη συγγενούς δότη. Ο κίνδυνος ανεπάρκειας είναι μεγαλύτερος με μυελικό μόσχευμα από ότι με περιφερικά αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα.⁵ Σε ότι αφορά τη GvHD, η επίπτωση και η σοβαρότητα της εξαρτάται από τη συμβατότητα δότη –λήπτη, την πηγή του μοσχεύματος και το σχήμα ανοσοκαταστολής που χορηγείται. Σε μία πολυκεντρική μελέτη φάσης III φάνηκε ότι το tacrolimus και η μεθοτρεξάτη αποτελούν το καλύτερο σχήμα για προφύλαξη από τη GvHD στην περίπτωση μεταμόσχευσης από μη συγγενή δότη,⁶ αν και σε μία πιο πρόσφατη αναδρομική μελέτη αυτό δεν επιβεβαιώθηκε.⁷ Επίσης η προσθήκη αντιθυμοκυτταρικής σφαιρίνης (ATG) στο σχήμα προετοιμασίας μπορεί να μειώσει την επίπτωση της GvHD. Στην περίπτωση αυτή η grade II-IV GvHD εμφανίζεται σε ποσοστό 30-40%, ενώ όταν χορηγείται μόνο αναστολέας καλσινευρίνης χωρίς ATG το ποσοστό αυτό αυξάνεται σε 50-80%.⁸

Άλλοι παράγοντες που παίζουν ρόλο στη μεταμόσχευση από μη συγγενή δότη είναι η ηλικία και το φύλο του δότη τα ελάσσονα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας, η πηγή των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων, η δόση των CD34+ και το CMV status του δότη και του λήπτη. Γενικά η HLA συμβατότητα φαίνεται να είναι ο κύριος παράγοντας που καθορίζει την έκβαση της μεταμόσχευσης με MMURD. Όταν η ασυμβατότητα αυτή είναι μη επιτρεπτή πρέπει να εξετάζεται το ενδεχόμενο εναλλακτικών δοτών, όπως είναι το ομφαλοπλακουντιακό αίμα και ο απλοταυτόσημος δότης.

Ομφαλοπλακουντιακό αίμα (ΟΠΑ)

Το ΟΠΑ έχει χρησιμοποιηθεί για τη μεταμόσχευση ασθενών με διάφορες αιματολογικές παθήσεις. Η πρώτη επιτυχής μεταμόσχευση έγινε το 1988 σε ένα παιδί 5 ετών με αναιμία Fanconi, το οποίο έλαβε μόσχευμα από τον πλήρως συμβατό αδελφό του. Σήμερα είναι αποθηκευμένες παγκοσμίως περίπου 680000 μονάδες ΟΠΑ και έχουν γίνει περισσότερες από 35000 μεταμοσχεύσεις. Οι πρώτες μελέτες που έγιναν σε παιδιά είχαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα, και βάσει αυτών άρχισαν να γίνονται μεταμοσχεύσεις με ΟΠΑ και σε ενήλικες. Σε μία αναδρομική μελέτη σε ασθενείς με οξεία λευχαιμία έγινε σύγκριση μεταξύ αυτών που έλαβαν μυελικό μόσχευμα (n=472) ή περιφερικά αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα (n=888) και εκείνων που μεταμοσχεύθηκαν με ΟΠΑ (n=165).⁹ Φάνηκε ότι η Leukemia Free Survival (LFS) μετά τη μεταμόσχευση με ΟΠΑ ήταν συγκρίσιμη με αυτή του μυελικού μοσχεύματος ή των περιφερικών κυττάρων με 8/8 ή 7/8 HLA συμβατότητα σε επίπεδο αλληλίου. Η επίπτωση της χρόνιας αλλά όχι της οξείας GvHD

ήταν χαμηλότερη στην περίπτωση του ΟΠΑ, ενώ η TRM ήταν υψηλότερη. Με βάση αυτή τη μελέτη η μεταμόσχευση με ΟΠΑ προτάθηκε να γίνεται όταν δεν υπάρχει HLA-συμβατός μη συγγενής δότης.

Βασικός περιορισμός στη χρήση των μονάδων του ΟΠΑ είναι ο μικρός αριθμός των κυττάρων που περιέχουν. Σε μία προσπάθεια να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα εφαρμόστηκε η μεταμόσχευση με 2 μονάδες ΟΠΑ. Σε μία μελέτη που έγινε σύγκριση της μεταμόσχευσης με διπλό ΟΠΑ (n=128) με μεταμόσχευση με συγγενή ιστοσυμβατό δότη (n=204) και μη συγγενή ιστοσυμβατό δότη (n=152) σε ενήλικες με λευχαιμία βρέθηκε πολύ χαμηλότερος κίνδυνος υποτροπής στην πρώτη περίπτωση (15% vs 43% και 37% αντίστοιχα). Η Non Relapse Mortality (NRM) όμως ήταν υψηλότερη με το ΟΠΑ (34% vs 24% και 14% αντίστοιχα).¹⁰

Προκειμένου να βελτιωθούν τα παραπάνω αποτελέσματα δοκιμάστηκαν σχήματα προετοιμασίας μειωμένης έντασης (RIC) με Fludarabine, Cyclophosphamide και χαμηλή δόση TBI ή Fludarabine, Melphalan και αντιθυμοκυτταρική σφαιρίνη. Σε 2 παράλληλες μελέτες φάσης II εξετάστηκε η μεταμόσχευση με διπλό ΟΠΑ με RIC σχήμα προετοιμασίας σε σχέση με απλοταυτόσημη μεταμόσχευση με χορήγηση Cyclophosphamide μετά τη λήψη του μοσχεύματος για τη μείωση του κινδύνου GvHD.¹¹ Η NRM ήταν σημαντικά υψηλότερη στην πρώτη ομάδα (24% vs 7%) αλλά το ποσοστό υποτροπής ήταν υψηλότερο με την απλοταυτόσημη (45% vs 31%). Η Disease Free Survival (DFS) στον 1 χρόνο ήταν περίπου ίδια (46% για το ΟΠΑ και 48% για την απλοταυτόσημη).

HLA συμβατότητα και δόση κυττάρων

Η εξέταση της HLA συμβατότητας για το ΟΠΑ γίνεται με χαμηλή/ενδιάμεση ανάλυση για τα HLA-A και -B (σε επίπεδο αντιγόνου) και με υψηλή ανάλυση για το HLA-DRB1 (σε επίπεδο αλληλίου). Τη δεκαετία του 1990 διάφορες μελέτες έδειξαν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της δόσης των κυττάρων και της HLA συμβατότητας. Σε μία μελέτη του CIBMTR και της New York Cord Blood Bank σε παιδιά με οξεία λευχαιμία έγινε σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ 503 ασθενών που μεταμοσχεύθηκαν με ΟΠΑ και 282 ασθενών που μεταμοσχεύθηκαν με μυελό από μη συγγενείς δότες.⁹ Ο απαιτούμενος χρόνος για την εγκατάσταση του μοσχεύματος ήταν συγκρίσιμος μεταξύ αυτών που μεταμοσχεύθηκαν με μυελό και με ΟΠΑ με συμβατότητα 6/6. Η συνολική δόση των εμπύρηνων κυττάρων- TNC >3×10⁷/kgf σχετίστηκε με ταχύτερη εγκατάσταση στα ΟΠΑ με συμβατότητα 5/6, αλλά δεν είχε καμία επίδραση στα 4/6, δείχνοντας ότι η

δόση των κυττάρων δεν μπορεί να υπερκεράσει αυτή την ασυμβατότητα. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα το Eurocord πρότεινε η επιλογή των μονάδων να γίνεται ως εξής: όταν 1 μονάδα (6/6 ή 5/6) δεν περιέχει $TNC > 2,5-3 \times 10^7/kg$, προτείνεται η χορήγηση 2 μονάδων ώστε $TNC > 3 \times 10^7/kg$, ενώ δεν συστήνονται οι μονάδες με 3 ή περισσότερα mismatches. Σε μία μελέτη που έγινε το 2010 σε 1061 ασθενείς που μεταμοσχεύθηκαν με 1 μονάδα ΟΠΑ για οξεία λευχαιμία ή μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο με μυελοαφανιστικό σχήμα προετοιμασίας φάνηκε ότι τα καλύτερα αποτελέσματα σε ότι αφορά την εγκατάσταση, τη GvHD, τη NRM, τη συνολική θνητότητα και την αποτυχία της θεραπείας είχαν όσοι μεταμοσχεύθηκαν με μόσχευμα 6/6 ανεξαρτήτως δόσης εμπυρήνων κυττάρων.¹² Τα επόμενα καλύτερα αποτελέσματα είχαν όσοι μεταμοσχεύθηκαν με μόσχευμα 5/6 με $TNC \geq 2,5 \times 10^7/kg$ ή με 4/6 και $TNC \geq 5 \times 10^7/kg$. Το 2011 το CIBMTR σε συνεργασία με το Eurocord ανέλυσαν τη σημασία της συμβατότητας και στο HLA-C σε 803 ασθενείς που μεταμοσχεύθηκαν με 1 μονάδα ΟΠΑ.¹³ Η NRM ήταν υψηλότερη σε αυτούς που είχαν ασυμβατότητα στο HLA-C μόνο σε σχέση με αυτούς που ήταν πλήρως συμβατοί (8/8) και σε εκείνους που είχαν ασυμβατότητα σε ένα από τα HLA-A, -B, -DRB1 και στο HLA-C σε σχέση με αυτούς που είχαν ασυμβατότητα μόνο σε ένα από τα τρία πρώτα. Με βάση λοιπόν αυτή τη μελέτη προτάθηκε να γίνεται επιπλέον ενδιάμεση ανάλυση στο HLA-C.

Η παρουσία anti-HLA αντισωμάτων στους ασθενείς ειδικών για HLA αντιγόνα του δότη έχει φανεί ότι επηρεάζει την εγκατάσταση του μοσχεύματος.^{14,15} Συνεπώς συνιστάται ο έλεγχος των ασθενών για αυτά τα αντισώματα και η αποφυγή των μονάδων για τις οποίες ο ασθενής έχει υψηλό τίτλο αντισωμάτων. Ένας άλλος παράγοντας που έχει φανεί ότι επηρεάζει την εγκατάσταση του μοσχεύματος είναι η κατεύθυνση της HLA-ασυμβατότητας μεταξύ δότη και λήπτη, αλλά τα υπάρχοντα δεδομένα δεν είναι τόσο ισχυρά ώστε η επιλογή των μονάδων να γίνεται με βάση αυτό το κριτήριο.

NIMA (Noninherited Maternal Antigens)

Πολλοί ασθενείς μεταμοσχεύονται με ΟΠΑ με HLA ασυμβατότητα, αφού η ανεύρεση μονάδας πλήρως συμβατής δεν είναι πάντα εφικτή. Μία εναλλακτική επιλογή ίσως είναι η επιλογή μονάδων βάσει της συμβατότητας των ασθενών με τα μη κληρονομούμενα μητρικά αντιγόνα (NIMA) των μονάδων ΟΠΑ. Το έμβρυο εκτίθεται σε μητρικά κύτταρα που εκφράζουν τα NIMA μέσω της κυκλοφορίας αυτών στο εμβρυϊκό

αίμα διαμέσου του πλακούντα. Η ανοχή σε αυτά τα HLA ασύμβατα μητρικά αντιγόνα επιτυγχάνεται μέσω καταστολής της έκπτυξης αλλοδραστικών κυττάρων από ρυθμιστικά Τα-λεμφοκύτταρα. Αυτή η ανοχή μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη μεταμόσχευση με ΟΠΑ όταν υπάρχει ασυμβατότητα μεταξύ δότη και ασθενούς σε ένα αντιγόνο στο οποίο όμως ο ασθενής είναι συμβατός με τη μητέρα του εμβρύου. Έχει φανεί ότι η μεταμόσχευση με NIMA-συμβατά μοσχεύματα έχει μικρότερη TRM, ταχύτερη εγκατάσταση και συνεπώς μειωμένη ολική θνησιμότητα, σε σχέση με τα HLA ασύμβατα μοσχεύματα τα οποία έχουν και NIMA-ασυμβατότητα. Καλά αποτελέσματα έχουν παρατηρηθεί με μοσχεύματα 5/6 ή 4/6 HLA-συμβατά και συμβατότητα σε 1 NIMA.¹⁶ Σε μία πολυκεντρική μελέτη των Rocha et al επιβεβαιώθηκαν αυτά τα αποτελέσματα. Συγκεκριμένα έγινε σύγκριση 48 μεταμοσχεύσεων με ΟΠΑ και NIMA συμβατότητα με 116 μεταμοσχεύσεις με NIMA ασυμβατότητα. Η TRM στα 5 χρόνια ήταν χαμηλότερη με τα NIMA συμβατά μοσχεύματα (18% vs 32%, $p=0,05$). Διαφορά υπήρχε και στην πενταετή συνολική επιβίωση (55% vs 38%, $p=0,04$). Ο κίνδυνος οξείας GvHD grade II-IV και χρόνιας GvHD δεν ήταν διαφορετικός μεταξύ των 2 ομάδων.¹⁷

Συνεπώς, φαίνεται ότι η μεταμόσχευση με μη πλήρως συμβατές μονάδες ΟΠΑ όπου ο ασθενής είναι συμβατός με τα NIMA του δότη μπορεί να μειώσει τη θνησιμότητα. Ειδικά σήμερα που ζητείται συχνά ανάλυση και στο HLA-C αντιγόνο ή υψηλή ανάλυση σε περισσότερα αντιγόνα, οπότε μειώνεται η πιθανότητα ανεύρεσης πλήρως συμβατής μονάδας, η αξία του προσδιορισμού των NIMA μπορεί να είναι ακόμα μεγαλύτερη.

Μελλοντικές προοπτικές

Σημαντικός περιορισμός στη χρήση ΟΠΑ είναι ο μειωμένος αριθμός κυττάρων των αποθηκευμένων μονάδων. Συχνά μία μονάδα με καλή HLA-συμβατότητα μπορεί να είναι ακατάλληλη λόγω του μικρού αριθμού εμπυρήνων κυττάρων. Στους ενήλικες μπορεί να χορηγηθούν 2 μονάδες, αλλά αυτή η διαδικασία σχετίζεται με αυξημένη επίπτωση GvHD, βραδύτερη αύξηση λευκών και αιμοπεταλίων και μεγαλύτερο κόστος. Πρόσφατες εξελίξεις στην κυτταρική μηχανική προσφέρουν τη δυνατότητα μεταμόσχευσης με 1 μονάδα ΟΠΑ, μετά από έκπτυξη των κυττάρων και βελτίωση του homing στο μυελό.

Η έκπτυξη και η διαφοροποίηση των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων μπορεί να επιτευχθεί με την καλλιέργεια τους με άλλα κύτταρα και την εξωγενή χρήση κυτταροκινών. Από μελέτες φάνηκε αρχικά ότι η

συγκαλλιέργεια με κύτταρα του στρώματος του μυελού αυξάνει την έκπτυξη των προγονικών κυττάρων και ότι η εξωγενής χρήση κυτταροκινών δρα συνεργικά σε αυτό.^{18,19} Στο τέλος της δεκαετίας του '80 2 ομάδες ανέφεραν ότι ο stem cell factor (SCF), ο flt3 ligand, η IL-3, η IL-6 και ο granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) μπορούσαν να αυξήσουν την έκπτυξη των κυττάρων.^{20,21} Νέοι αυξητικοί παράγοντες με τους οποίους μπορεί να επιτευχθεί αυτό είναι ο insulin-like growth factor-binding protein 2 (IGFBP-2), ο insulin-like growth factor 1 (IGF-1) ή IGF-2 και ο fibroblast growth factor 1 (FGF-1).^{22,23} Μεγάλη πρόοδος έχει γίνει και στην αναγνώριση ενδογενών ρυθμιστών, βιοχημικών μονοπατιών και μικρών μορίων που μπορούν να προάγουν την έκπτυξη των κυττάρων. Γονίδια των μονοπατιών Wnt, HOX και Notch έχουν ελεγχθεί ως υποψήφιοι αγωνιστές της έκπτυξης. Καλά αποτελέσματα φαίνεται να έχει ο Notch ligand Delta-1.²⁴ Τα τελευταία χρόνια έχουν αναγνωριστεί μικρά μόρια τα οποία μπορούν σε συνδυασμό με κυτταροκίνες να αυξήσουν την έκπτυξη των κυττάρων. Τέτοια μόρια είναι η trichostatin A, αναστολέας της αποακετυλάσης των ιστονών και η 5-aza-2-deoxycytidine, αναστολέας της μεθυλοτρανσφεράσης των ιστονών.²⁵ Ανάλογα αποτελέσματα έχουν δημοσιευθεί και για το νικοτιναμίδιο.²⁶

Ένα άλλο πεδίο ανάπτυξης αποτελεί η βελτίωση της εγκατάστασης του μοσχεύματος με μόρια που προάγουν το homing των κυττάρων στο μυελό. Τέτοια μόρια είναι η 16,16-dimethyl-prostaglandin E2, η sitagliptin που είναι ένας αναστολέας της dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) και το βαλπροϊκό οξύ.²⁷⁻²⁹ Τα περισσότερα από αυτά δρουν άμεσα ή έμμεσα στον κύριο χημειοτακτικό άξονα μετακίνησης των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων στο μυελό, στον SDF-1 και στον υποδοχέα του CXCR4. Για παράδειγμα η αναστολή του DPP4 από τη sitagliptin προωθεί το homing των κυττάρων εμποδίζοντας την πρωτεόλυση του SDF-1.³⁰

Πλέον με τη μεταμόσχευση 2 μονάδων ΟΠΑ υπάρχει η δυνατότητα έκπτυξης της μιας μονάδας με σκοπό την ταχύτερη άμεση εγκατάσταση του μοσχεύματος, ενώ η μη επεξεργασμένη μονάδα μπορεί να εξασφαλίσει μία ασφαλή πηγή κυττάρων για τη μακροχρόνια λειτουργία του μοσχεύματος. Σε μία μελέτη των Delaney et al επιτεύχθηκε με το Notch-based πρωτόκολλο αύξηση κατά 164 φορές των CD34+ κυττάρων και η εγκατάσταση επιταχύνθηκε σημαντικά, με διάμεσο χρόνο αποκατάστασης των ουδετεροφίλων την ημέρα +16. Η ανάλυση της χίμαιρας έδειξε ότι η πρώιμη αποκατάσταση των ουδετεροφίλων οφειλόταν στην εκπτυγμένη μονάδα, ενώ η μακροχρόνια εγκατάσταση του μοσχεύματος οφειλόταν σχεδόν αποκλειστικά στη μη εκπτυγμένη μονάδα.³¹

Απλοταυτόσημη μεταμόσχευση

Η ιστοσυμβατότητα εξαρτάται κατά κύριο λόγο από τα μείζονα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας ή αντιγόνα HLA (Human Leukocyte Antigen), τα οποία καθορίζονται γενετικά και παρουσιάζουν μεγάλο πολυμορφισμό μεταξύ των διαφόρων ατόμων. Η γενετική θέση των αντιγόνων HLA βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6. Κάθε άνθρωπος διαθέτει δύο χρωμοσώματα 6. Ο απλοταυτόσημος συγγενής δότης είναι αυτός που διαθέτει ένα μόνο κοινό χρωμόσωμα 6 με τον ασθενή, με αποτέλεσμα συμβατότητα στα μισά από τα αντιγόνα HLA και ασυμβατότητα στα άλλα μισά. Απλοταυτόσημοι δότες μπορεί να είναι οι βιολογικοί γονείς, τα αδέρφια, τα βιολογικά παιδιά, καθώς και άλλα μέλη της οικογένειας.^{32,33}

Οι απλοταυτόσημες μεταμοσχεύσεις χαρακτηρίζονται από την ισχυρή αλλοαντιδραστικότητα και προς τις δύο κατευθύνσεις, δηλαδή δέκτη και δότη. Το ανοσολογικό σύστημα του δέκτη κατευθύνεται έναντι των κυττάρων του δότη με κίνδυνο την ανεπαρκή εγκατάσταση και την απόρριψη του μοσχεύματος και το ανοσολογικό σύστημα του δότη έναντι των κυττάρων του δέκτη, με αποτέλεσμα τη νόσο μοσχεύματος έναντι ξενιστή (GVHD). Ως αποτέλεσμα οι αρχικές προσπάθειες για μεταμόσχευση από απλοταυτόσημο δότη περιορίζονταν από μη αποδεκτή τοξικότητα και μη αποδεκτά ποσοστά απόρριψης.^{5,34,35}

Πλεονεκτήματα της απλοταυτόσημης μεταμόσχευσης

- *Αυξημένη διαθεσιμότητα δοτών, οι οποίοι μάλιστα έχουν και την καλύτερη πρόθεση.* Εκτιμάται ότι ένας ασθενής έχει κατά μέσο όρο 2.7 πιθανούς απλοταυτόσημους δότες ανάμεσα στους συγγενείς πρώτου βαθμού.
- *Άμεση διαθεσιμότητα.* Ένας απλοταυτόσημος δότης μπορεί να ταυτοποιηθεί και να κινητοποιηθεί μέσα σε διάστημα 2 εβδομάδων – 1 μήνα, σε αντίθεση με έναν μη συγγενή συμβατό δότη, που στο 25% των ασθενών χρειάζεται διάστημα μεγαλύτερο των 3 μηνών.
- *Ικανοποιητική περιεκτικότητα αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων (Hematopoietic stem cells, HSCs).* Τα απλοταυτόσημα μοσχεύματα έχουν επαρκείς δόσεις HSCs και μνημονικών T λεμφοκυττάρων για την ανοσιακή αποκατάσταση.
- *Χαμηλό κόστος συλλογής του μοσχεύματος.*
- *Άμεση διαθεσιμότητα του δότη σε περίπτωση ανάγκης χορήγησης συμπληρωματικού μοσχεύματος ή λεμφοκυττάρων.*
- *Ισχυρή graft-versus-leukemia δράση για τους ασθενείς υψηλού κινδύνου με οξεία λευχαιμία.*³⁶

Μειονεκτήματα της απλοταυτόσημης μεταμόσχευσης

- Υψηλότερα ποσοστά απόρριψης του μοσχεύματος.
- Σοβαρή ή και θανατηφόρα GVHD, όταν δεν συμπεριλαμβάνεται αποτελεσματική προφύλαξη στο σχήμα προετοιμασίας, ή την επεξεργασία του μοσχεύματος
- Οι προσπάθειες για αφαίρεση των T λεμφοκυττάρων από τα απλοταυτόσημα μοσχεύματα και η χρήση κυκλοφωσφαμίδης μετά τη μεταμόσχευση ελάττωσαν τα ποσοστά της GVHD, με κόστος όμως την αυξημένη επίπτωση απόρριψης μοσχεύματος και υποτροπής.
- Αυξημένη NRM, κυρίως λόγω λοιμωδών παραγόντων, συνεπεία της αργής ανοσιακής αποκατάστασης, που συνοδεύει την αφαίρεση των T λεμφοκυττάρων από το μόσχευμα.

Τεχνικές στην απλοταυτόσημη μεταμόσχευση

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες έχουν γίνει πολλές προσπάθειες για τον έλεγχο του προβλήματος της αλλοαντιδραστικότητας και τα αποτελέσματα των απλοταυτόσημων μεταμοσχεύσεων είναι κατά πολύ βελτιωμένα. Η βασική αρχή είναι η αφαίρεση των T λεμφοκυττάρων από το μόσχευμα. Η περιεκτικότητα του μοσχεύματος σε T λεμφοκύτταρα έχει άμεση σχέση με τον κίνδυνο εμφάνισης GVHD και την απόρριψη του μοσχεύματος.

Η απομάκρυνση των T λεμφοκυττάρων μπορεί να γίνει με τεχνικές *ex vivo* και τεχνικές *in vivo*. Οι *ex vivo* τεχνικές περιλαμβάνουν έμμεση απομάκρυνση των T λεμφοκυττάρων με την τεχνική της επιλογής των CD34+ κυττάρων και άμεση αφαίρεση των T λεμφοκυττάρων, με εκλεκτική αφαίρεση των CD3+ T λεμφοκυττάρων ή εκλεκτική αφαίρεση των αβ+ T λεμφοκυττάρων. Οι *in vivo* τεχνικές περιλαμβάνουν τη χρήση αντι-λεμφοκυτταρικών αντισωμάτων (αντι-λεμφοκυτταρικός ορός) ή τη χρήση κυκλοφωσφαμίδης μετά τη μεταμόσχευση.

*Θετική επιλογή CD34+ κυττάρων σε συνδυασμό με αφαίρεση T λεμφοκυττάρων*³⁷⁻³⁸

Οι αρχικές μελέτες με αυτή την τεχνική χρησιμοποίησαν υψηλές δόσεις CD34+ κυττάρων σε συνδυασμό με μυελοαφανιστικό σχήμα προετοιμασίας, χωρίς επιπρόσθετη προφύλαξη για το GVHD. Τα ποσοστά εγκατάστασης του μοσχεύματος ήταν 90-95% και τα ποσοστά οξείας και χρόνιας GVHD <10%.³⁹⁻⁴¹ Το σχήμα προετοιμασίας που χρησιμοποιήθηκε και χρησιμοποιείται σε αυτή την τεχνική εξελίχθηκε με την

πάροδο των ετών από τη χρήση TBI (σε μία δόση 8 Gy), thiotepa, κυκλοφωσφαμίδης και κονικλείου ATG στην αντικατάσταση της κυκλοφωσφαμίδης και του ATG με φλουνταραμπίνη και alemtuzumab.⁴²

Το μεγαλύτερο πρόβλημα με αυτή την τεχνική είναι η αυξημένη NRM, η οποία αγγίζει ποσοστά της τάξεως του 57% και οφείλεται στην πολύ αργή ανοσιακή αποκατάσταση με αποτέλεσμα υψηλά ποσοστά ευκαιριακών λοιμώξεων κυρίως από ιούς και μύκητες. Μέθοδοι για τη βελτίωση της ανοσιακής αποκατάστασης των ασθενών είναι η αρνητική επιλογή των CD3/CD19 T λεμφοκυττάρων^{43,44} και η εκλεκτική αφαίρεση από το μόσχευμα των αβ+ T λεμφοκυττάρων,^{45,46} αλλά όχι των γδ+. Τα μοσχεύματα που προκύπτουν με αυτούς τους χειρισμούς δεν περιέχουν μόνο CD34+ κύτταρα, αλλά και μεγάλους αριθμούς NK κυττάρων, μονοκυττάρων και και άλλων ανοσοδραστικών κυττάρων, που μειώνουν τον κίνδυνο απόρριψης του μοσχεύματος και επιταχύνουν την αποκατάσταση του ανοσολογικού συστήματος. Ειδικά για τα γδ+ T λεμφοκύτταρα, φαίνεται ότι παίζουν ρόλο στην προστασία έναντι των CMV και EBV, έχουν αντινεοπλασματική δράση και πιθανότατα συσχετίζονται σε μικρό βαθμό με την εμφάνιση GVHD. Αποτελούν τη μειοψηφία των κυκλοφορούντων T λεμφοκυττάρων (1-10%). Η πλειοψηφία των T λεμφοκυττάρων είναι τα αβ+ T λεμφοκύτταρα, που είναι οι βασικοί διαμεσολαβητές στην εμφάνιση GVHD.⁴⁷

Επιπλέον εφαρμόζονται η έγχυση T λεμφοκυττάρων ειδικών έναντι ιών (CMV, EBV)⁴⁸ και μυκήτων (*Aspergillus*), επαναληπτικές εγχύσεις T λεμφοκυττάρων,⁴⁹ καθώς και έγχυση T λεμφοκυττάρων του δότη με ειδική έκφραση suicide γονιδίων (γονίδια αυτοκτονίας), με δυνατότητα ενεργοποίησης σε περίπτωση εμφάνισης GVHD.⁵⁰ Νεότερες τεχνικές που βρίσκονται σε εξέλιξη είναι η αφαίρεση των CD45RA T λεμφοκυττάρων (πρόκειται για κύτταρα ώριμα, χωρίς να έχουν έρθει σε επαφή με αντιγόνα, εξαιρετικά αλλοαντιδραστικά) και η παραγωγή μοσχευμάτων πλούσιων σε Tregs και Tcons.⁵¹

Το πρωτόκολλο "GIAC"

Η τεχνική αυτή βασίζεται στην κινητοποίηση του δότη με αυξητικό παράγοντα των κοκκιοκυττάρων (G-CSF) – "G", εντατικοποιημένη ανοσοκαταστολή μετά τη μεταμόσχευση (intensified – "I"), προσθήκη αντιλεμφοκυτταρικού ορού στο σχήμα προετοιμασίας για την προφύλαξη από GVHD και την υποβοήθηση της εγκατάστασης του μοσχεύματος (ATG – "A") και συνδυαστική συλλογή μοσχεύματος περιφερικών προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων και μυελικού μοσχεύματος (combination – "C"). Η αρχική μελέτη

που παρουσίασε αυτή την τεχνική προέρχεται από την Κίνα και αφορά 171 ασθενείς. Η εγκατάσταση του μοσχεύματος ήταν επιτυχής σε όλους τους ασθενείς, αλλά τα συνολικά ποσοστά οξείας GVHD βαθμού 2-4 και βαθμού 3-4 ήταν 55% και 23% αντίστοιχα, ενώ τα συνολικά ποσοστά χρόνιας και σοβαρής χρόνιας GVHD 74% και 47% αντίστοιχα. Τα ποσοστά TRM, υποτροπής και επιβίωσης ελεύθερης νόσου (disease-free survival, DFS) στα δύο έτη ήταν 20, 12 και 68% για τους ασθενείς μέσου κινδύνου και 31, 39 και 42% για τους ασθενείς υψηλού κινδύνου.⁵²

Μεταγενέστερες δημοσιεύσεις, προερχόμενες κυρίως από την Κίνα, επιβεβαίωσαν επιτυχή εγκατάσταση του μοσχεύματος και αποδεκτά ποσοστά NRM, DFS με τη χρήση αυτής της μεθόδου, αλλά ταυτόχρονα υψηλά ποσοστά GVHD.^{53,54} Σε μια προσπάθεια αντιμετώπισης του θέματος αυτού, ερευνητικές ομάδες τροποποίησαν τη μέθοδο με τη χρήση μόνο μυελικών μοσχευμάτων, προφύλαξη για τη GVHD με μεθοτρεξάτη, κυκλοσπορίνη, MMF, ακόμα και με και το anti-CD25 μονοκλωνικό αντίσωμα basiliximab στο σχήμα προετοιμασίας. Τα ποσοστά οξείας και χρόνιας GVHD ελαττώθηκαν κατά πολύ με τις παρεμβάσεις αυτές και κυμαίνονταν σε όλες τις μελέτες μεταξύ 11-24% και 6-10% αντίστοιχα. Η ιταλική μελέτη των Bartolomeo et al παρουσίασε ποσοστά οξείας GVHD βαθμού 2-4, βαθμού 3-4, χρόνιας GVHD, επιτυχούς εγκατάστασης του μοσχεύματος και NRM 24%, 5%, 6%, 93% και 36% αντίστοιχα.⁵⁵⁻⁵⁷

Όσον αφορά την επιβίωση ειδικά των ασθενών με οξεία λευχαιμία που υποβλήθηκαν σε απλοταυτόσημη μεταμόσχευση με το πρωτόκολλο GIAC, τα αποτελέσματα είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικά.^{53,58-60} Μαλιστα από μια μελέτη προέκυψε ότι οι ασθενείς πολύ υψηλού κινδύνου μετά από απλοταυτόσημη μεταμόσχευση είχαν καλύτερα αποτελέσματα από αυτούς που είχαν μεταμοσχευθεί από HLA συμβατό αδελφό, κυρίως λόγω χαμηλότερων ποσοστών υποτροπής (26% έναντι 49%).⁵⁸

Συμπερασματικά η τεχνική GIAG συνιστά μια τεχνική σχετικά φθηνή, εύκολα εφαρμόσιμη και με αποδεκτή τοξικότητα.

Χρήση κυκλοφωσφαμίδης μετά τη μεταμόσχευση (Post-transplantation cyclophosphamide, PTCy)⁶¹⁻⁶²

Το ιδανικό σενάριο για την αφαίρεση των T λεμφοκυττάρων από το απλοταυτόσημο μόσχευμα θα ήταν η εκλεκτική αφαίρεση εκείνου του υποπληθυσμού των T λεμφοκυττάρων που είναι υπεύθυνα για την αλλοαντιδραστικότητα και προς τις δύο κατευθύνσεις (δότης και λήπτης) και την επακόλουθη απόρριψη του

μοσχεύματος από τη μία πλευρά και τη GVHD από την άλλη. Τα υπόλοιπα T λεμφοκύτταρα, που δεν ενέχονται στην αλλοαντιδραστικότητα, θα μπορούσαν να παραμείνουν και να επιταχύνουν την ανοσιακή αποκατάσταση, παρέχοντας ταυτόχρονα προστασία έναντι λοιμωδών παραγόντων. Η κυκλοφωσφαμίδη αποτελεί φάρμακο κλειδί για να επιτύχουμε αυτό ακριβώς το αποτέλεσμα. Ήδη προκλινικές μελέτες είχαν δείξει ότι η χορήγηση της κυκλοφωσφαμίδης σε μεγάλη δόση, τον κατάλληλο χρόνο μετά τη μεταμόσχευση (μεταξύ 60 και 72 ωρών), είχε σαν αποτέλεσμα την ελάττωση της επίπτωσης της GVHD και της απόρριψης του μοσχεύματος. Η κυκλοφωσφαμίδη έχει επίδραση στα πολλαπλασιαζόμενα αλλοαντιδραστικά T λεμφοκύτταρα τόσο του δότη όσο και του λήπτη, χωρίς να επηρεάζει τα μη πολλαπλασιαζόμενα, μη αλλοαντιδραστικά T λεμφοκύτταρα. Επιπλέον δεν είναι τόσο τοξική για τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα, λόγω της έκφρασης σε αυτά του αδρανοποιητικού της ενζύμου, της αλδεϋδης δεϋδρογενάσης (ALDH, aldehyde dehydrogenase).

Η χρήση της κυκλοφωσφαμίδης μετά τη μεταμόσχευση έχει συνδυαστεί τόσο με μυελοαφανιστικά όσο και μη μυελοαφανιστικά (RIC) σχήματα προετοιμασίας με ικανοποιητικά ποσοστά οξείας και χρόνιας GVHD (από 12% ως 27% και από 10% ως 13% αντίστοιχα), χαμηλή NRM (κατά μέσο όρο 18%) και αποδεκτά ποσοστά υποτροπής και DFS. Τα ποσοστά επιτυχούς εγκατάστασης του μοσχεύματος ήταν περίπου 90%.⁶³⁻⁶⁶

Η μελέτη των Bashey et al το 2013 έδειξε ότι απλοταυτόσημες μεταμοσχεύσεις με τη χρήση κυκλοφωσφαμίδης μετά τη μεταμόσχευση έχουν ανάλογη έκβαση με μοσχεύσεις από συγγενείς και μη συγγενείς συμβατούς δότες.⁶⁴

Επιλογή του κατάλληλου απλοταυτόσημου δότη

Με βάση τη σύγχρονη βιβλιογραφία, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι εξής παράμετροι, προ της επιλογής ενός απλοταυτόσημου δότη⁶⁷:

1. Από νεότερες μελέτες προκύπτει ότι ο βαθμός ασυμβατότητας HLA δεν επηρεάζει την έκβαση της μεταμόσχευσης. Σε αυτό έχουν παίξει ρόλο οι νεότερες τεχνικές χειρισμού των μοσχευμάτων που προαναφέρθηκαν, καθώς και το σχήμα προετοιμασίας και η χρήση κυκλοφωσφαμίδης μετά τη μεταμόσχευση.
2. Αντισώματα του δέκτη έναντι HLA του δότη (DSA, Donor specific antibodies).
3. ABO συμβατότητα.
4. CMV οροθετικότητα δότη και λήπτη.
5. Ηλικία και φύλο του δότη. Οι νέοι άνδρες είναι οι πιο κατάλληλοι δότες.

6. Συγγενείς δότες: με σειρά προτίμησης: παιδί, νεότερος αδελφός, μεγαλύτερη αδελφή ή πατέρας, μεγαλύτερος αδελφός ή αδελφή, μητέρα, άλλοι συγγενείς.
7. NIMA ασυμβατότητα.
8. Αλλοαντιδραστικότητα NK κυττάρων.

Σύγκριση των τύπων μεταμόσχευσεων

Η σύγκριση της μεταμόσχευσης από συγγενή συμβατό δότη (MSD) με τη μεταμόσχευση από μη συγγενή συμβατό δότη (MUD), τη μεταμόσχευση με μη πλήρως συμβατό δότη (mMUD), τη μεταμόσχευση από ομφαλικό μόσχευμα (UCB) και την απλοταυτόσημη μεταμόσχευση βασίζεται σε τρεις αναδρομικές μελέτες^{66,68,69} και μια προοπτική μελέτη, που συμπεριλάμβανε ασθενείς με ΟΜΛ σε πρώτη πλήρη ύφεση, οι οποίοι μεταμοσχεύθηκαν από συγγενή συμβατό δότη ή από απλοταυτόσημο δότη.⁵³ Συμπερασματικά από τις αναδρομικές μελέτες προκύπτει ότι δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στους τύπους των μεταμοσχεύσεων όσον αφορά τα ποσοστά υποτροπής του αρχικού νοσήματος, την επιβίωση ελεύθερη νόσου, τη συνολική επιβίωση, τη θνητότητα σχετιζόμενη με υποτροπή και τη θνητότητα κατά τη μεταμόσχευση. Από τη μελέτη των Raiola et al προκύπτει στατιστικά σημαντική διαφορά στο χρόνο εγκατάστασης του μοσχεύματος για το ομφαλικό μόσχευμα (23 ημέρες) σε σχέση με τα υπόλοιπα μοσχεύματα (17-18 ημέρες). Στη μελέτη αυτή δεν συμπεριλήφθηκαν ασθενείς με mMUD. Στη συγκεκριμένη μελέτη οι ασθενείς με απλοταυτόσημο μόσχευμα είχαν λάβει κυκλοφωσφαμίδη μετά τη μεταμόσχευση, γεγονός που πιθανότατα εξηγεί τα χαμηλότερα ποσοστά οξείας και χρόνιας GVHD σε αυτούς τους ασθενείς σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες ομάδες. Διαπιστώθηκε επίσης αυξημένη επίπτωση CMV ιαιμίας σε αυτούς τους ασθενείς, ενώ οι λοιμώξεις από βακτήρια και μύκητες ως την ημέρα +100 δε διέφεραν ανάμεσα στις ομάδες των ασθενών.

Στην προοπτική μελέτη που προαναφέρθηκε οι ασθενείς και των δύο ομάδων έλαβαν το ίδιο σχήμα προφύλαξης GVHD, το οποίο περιλάμβανε κυκλοσπορίνη, MMF και μεθοτρεξάτη. Οι δύο ομάδες ασθενών είχαν ανάλογα ποσοστά DFS, συνολικής επιβίωσης και υποτροπής, αλλά οι ασθενείς με απλοταυτόσημο μόσχευμα παρουσίασαν υψηλότερα ποσοστά GVHD.

Δεν υπάρχουν στην παρούσα φάση μελέτες που να συγκρίνουν την απλοταυτόσημη μεταμόσχευση με το ομφαλικό μόσχευμα. Μια τέτοια μελέτη, που διεξάγεται από το United States Blood and Marrow Transplant Trials Network, βρίσκεται σε εξέλιξη.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Furst D, Muller C, Vucinic V, Bunjes D, Herr W, Gramatzki M, et al. High-resolution HLA matching in hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective collaborative analysis. *Blood*. 2013;122:3220-9.
2. Ho VT, Kim HT, Liney D, Milford E, Gribben J, Cutler C, et al. HLA-C mismatch is associated with inferior survival after unrelated donor non-myeloablative hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2006;37:845-50.
3. Lee SJ, Klein J, Haagenson M, Baxter-Lowe LA, Confer DL, Eapen M, et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood*. 2007;110:4576-83.
4. Shaw BE, Mayor NP, Russell NH, Apperley JF, Clark RE, Cornish J, et al. Diverging effects of HLA-DPB1 matching status on outcome following unrelated donor transplantation depending on disease stage and the degree of matching for other HLA alleles. *Leukemia*. 2010;24:58-65.
5. Anasetti C, Beatty PG, Storb R, Martin PJ, Mori M, Sanders JE, et al. Effect of HLA incompatibility on graft-versus-host disease, relapse, and survival after marrow transplantation for patients with leukemia or lymphoma. *Hum Immunol*. 1990;29:79-91.
6. Nash RA, Antin JH, Karanes C, Fay JW, Avalos BR, Yeager AM, et al. Phase 3 study comparing methotrexate and tacrolimus with methotrexate and cyclosporine for prophylaxis of acute graft-versus-host disease after marrow transplantation from unrelated donors. *Blood*. 2000;96:2062-8.
7. Inamoto Y, Flowers ME, Appelbaum FR, Carpenter PA, Deeg HJ, Furlong T, et al. A retrospective comparison of tacrolimus versus cyclosporine with methotrexate for immunosuppression after allogeneic hematopoietic cell transplantation with mobilized blood cells. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011;17:1088-92.
8. Weisdorf D, Cooley S, Devine S, Fehniger TA, DiPersio J, Anasetti C, et al. T cell-depleted partial matched unrelated donor transplant for advanced myeloid malignancy: KIR ligand mismatch and outcome. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;18:937-43.
9. Eapen M, Rubinstein P, Zhang MJ, Stevens C, Kurtzberg J, Scaradavou A, et al. Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukaemia: a comparison study. *Lancet*. 2007;369:1947-54.
10. Brunstein CG, Gutman JA, Weisdorf DJ, Woolfrey AE, Defor TE, Gooley TA, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancy: relative risks and benefits of double umbilical cord blood. *Blood*. 2010;116:4693-9.
11. Brunstein CG, Fuchs EJ, Carter SL, Karanes C, Costa LJ, Wu J, et al. Alternative donor transplantation after reduced intensity conditioning: results of parallel phase 2 trials using partially HLA-mismatched related bone marrow or unrelated double umbilical cord blood grafts.

- Blood. 2011;118:282-8.
12. Barker JN, Scaradavou A, Stevens CE. Combined effect of total nucleated cell dose and HLA match on transplantation outcome in 1061 cord blood recipients with hematologic malignancies. *Blood*. 2010;115:1843-9.
 13. Eapen M, Klein JP, Sanz GF, Spellman S, Ruggeri A, Anasetti C, et al. Effect of donor-recipient HLA matching at HLA A, B, C, and DRB1 on outcomes after umbilical-cord blood transplantation for leukaemia and myelodysplastic syndrome: a retrospective analysis. *Lancet Oncol*. 2011;12:1214-21.
 14. Takanashi M, Atsuta Y, Fujiwara K, Kodo H, Kai S, Sato H, et al. The impact of anti-HLA antibodies on unrelated cord blood transplantations. *Blood*. 2010;116:2839-46.
 15. Ruggeri A, Rocha V, Masson E, Labopin M, Cunha R, Absi L, et al. Impact of donor-specific anti-HLA antibodies on graft failure and survival after reduced intensity conditioning-unrelated cord blood transplantation: a Eurocord, Societe Francophone d'Histocompatibilite et d'Immunogenetique (SFHI) and Societe Francaise de Greffe de Moelle et de Therapie Cellulaire (SFGM-TC) analysis. *Haematologica*. 2013;98:1154-60.
 16. van Rood JJ, Stevens CE, Smits J, Carrier C, Carpenter C, Scaradavou A. Reexposure of cord blood to non-inherited maternal HLA antigens improves transplant outcome in hematological malignancies. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106:19952-7.
 17. Rocha V, Spellman S, Zhang MJ, Ruggeri A, Purtill D, Brady C, et al. Effect of HLA-matching recipients to donor noninherited maternal antigens on outcomes after mismatched umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancy. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;18:1890-6.
 18. Kawano Y, Kobune M, Yamaguchi M, Nakamura K, Ito Y, Sasaki K, et al. Ex vivo expansion of human umbilical cord hematopoietic progenitor cells using a coculture system with human telomerase catalytic subunit (hTERT)-transfected human stromal cells. *Blood*. 2003;101:532-40.
 19. Walenda T, Bokermann G, Ventura Ferreira MS, Piroth DM, Hieronymus T, Neuss S, et al. Synergistic effects of growth factors and mesenchymal stromal cells for expansion of hematopoietic stem and progenitor cells. *Exp Hematol*. 2011;39:617-28.
 20. Bhatia M, Bonnet D, Kapp U, Wang JC, Murdoch B, Dick JE. Quantitative analysis reveals expansion of human hematopoietic repopulating cells after short-term ex vivo culture. *J Exp Med*. 1997;186:619-24.
 21. Zandstra PW, Conneally E, Petzer AL, Piret JM, Eaves CJ. Cytokine manipulation of primitive human hematopoietic cell self-renewal. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:4698-703.
 22. Zhang CC, Kaba M, Ge G, Xie K, Tong W, Hug C, et al. Angiopoietin-like proteins stimulate ex vivo expansion of hematopoietic stem cells. *Nat Med*. 2006;12:240-5.
 23. Huynh H, Iizuka S, Kaba M, Kirak O, Zheng J, Lodish HF, et al. Insulin-like growth factor-binding protein 2 secreted by a tumorigenic cell line supports ex vivo expansion of mouse hematopoietic stem cells. *Stem Cells*. 2008;26:1628-35.
 24. Karanu FN, Murdoch B, Gallacher L, Wu DM, Koremoto M, Sakano S, et al. The notch ligand jagged-1 represents a novel growth factor of human hematopoietic stem cells. *J Exp Med*. 2000;192:1365-72.
 25. Araki H, Mahmud N, Milhem M, Nunez R, Xu M, Beam CA, et al. Expansion of human umbilical cord blood SCID-repopulating cells using chromatin-modifying agents. *Exp Hematol*. 2006;34:140-9.
 26. Peled T, Shoham H, Aschengrau D, Yackoubov D, Frei G, Rosenheimer GN, et al. Nicotinamide, a SIRT1 inhibitor, inhibits differentiation and facilitates expansion of hematopoietic progenitor cells with enhanced bone marrow homing and engraftment. *Exp Hematol*. 2012;40:342-55 e1.
 27. Hoggatt J, Singh P, Sampath J, Pelus LM. Prostaglandin E2 enhances hematopoietic stem cell homing, survival, and proliferation. *Blood*. 2009;113:5444-55.
 28. Christopherson KW, 2nd, Hangoc G, Broxmeyer HE. Cell surface peptidase CD26/dipeptidylpeptidase IV regulates CXCL12/stromal cell-derived factor-1 alpha-mediated chemotaxis of human cord blood CD34+ progenitor cells. *J Immunol*. 2002;169:7000-8.
 29. Seet LF, Teng E, Lai YS, Laning J, Kraus M, Wnendt S, et al. Valproic acid enhances the engraftability of human umbilical cord blood hematopoietic stem cells expanded under serum-free conditions. *Eur J Haematol*. 2009;82:124-32.
 30. Christopherson KW, 2nd, Hangoc G, Mantel CR, Broxmeyer HE. Modulation of hematopoietic stem cell homing and engraftment by CD26. *Science*. 2004;305:1000-3.
 31. Delaney C, Heimfeld S, Brashem-Stein C, Voorhies H, Manger RL, Bernstein ID. Notch-mediated expansion of human cord blood progenitor cells capable of rapid myeloid reconstitution. *Nat Med*. 2010;16:232-6.
 32. Kanakry CG, Fuchs EJ, Luznik L. Modern approaches to HLA-haploidentical blood or marrow transplantation. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016;13:10-24.
 33. Fabricius WA, Ramanathan M. Review on Haplo-identical Hematopoietic Cell Transplantation in Patients with Hematologic Malignancies. *Adv Hematol*. 2016;2016:5726132.
 34. Powles RL, Morgenstern GR, Kay HE, McElwain TJ, Clink HM, Dady PJ, et al. Mismatched family donors for bone-marrow transplantation as treatment for acute leukaemia. *Lancet*. 1983;1:612-5.
 35. Beatty PG, Clift RA, Mickelson EM, Nisperos BB, Flournoy N, Martin PJ, et al. Marrow transplantation from related donors other than HLA-identical siblings. *N Engl J Med*. 1985;313:765-71.
 36. Kanda Y, Chiba S, Hirai H, Sakamaki H, Iseki T, Kodera Y, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from family members other than HLA-identical siblings over the last decade (1991-2000). *Blood*. 2003;102:1541-7.

37. Aversa F, Tabilio A, Terenzi A, Velardi A, Falzetti F, Giannoni C, et al. Successful engraftment of T-cell-depleted haploidentical "three-loci" incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow inoculum. *Blood*. 1994;84:3948-55.
38. Aversa F, Tabilio A, Velardi A, Cunningham I, Terenzi A, Falzetti F, et al. Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. *N Engl J Med*. 1998;339:1186-93.
39. Ciceri F, Labopin M, Aversa F, Rowe JM, Bunjes D, Lewalle P, et al. A survey of fully haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in adults with high-risk acute leukemia: a risk factor analysis of outcomes for patients in remission at transplantation. *Blood*. 2008;112:3574-81.
40. Lang P, Greil J, Bader P, Handgretinger R, Klingebiel T, Schumm M, et al. Long-term outcome after haploidentical stem cell transplantation in children. *Blood Cells Mol Dis*. 2004;33:281-7.
41. Walker I, Shehata N, Cantin G, Couture F, Dhedin N, Barty R, et al. Canadian multicenter pilot trial of haploidentical donor transplantation. *Blood Cells Mol Dis*. 2004;33:222-6.
42. Martelli MF, Di Ianni M, Ruggeri L, Falzetti F, Carotti A, Terenzi A, et al. HLA-haploidentical transplantation with regulatory and conventional T-cell adoptive immunotherapy prevents acute leukemia relapse. *Blood*. 2014;124:638-44.
43. Waller EK, Giver CR, Rosenthal H, Somani J, Langston AA, Lonial S, et al. Facilitating T-cell immune reconstitution after haploidentical transplantation in adults. *Blood Cells Mol Dis*. 2004;33:233-7.
44. Bethge WA, Faul C, Bornhauser M, Stuhler G, Beelen DW, Lang P, et al. Haploidentical allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults using CD3/CD19 depletion and reduced intensity conditioning: an update. *Blood Cells Mol Dis*. 2008;40:13-9.
45. Schumm M, Lang P, Bethge W, Faul C, Feuchtinger T, Pfeiffer M, et al. Depletion of T-cell receptor alpha/beta and CD19 positive cells from apheresis products with the CliniMACS device. *Cytotherapy*. 2013;15:1253-8.
46. Airoidi I, Bertaina A, Prigione I, Zorzoli A, Pagliara D, Cocco C, et al. gammadelta T-cell reconstitution after HLA-haploidentical hematopoietic transplantation depleted of TCR- α beta+/CD19+ lymphocytes. *Blood*. 2015;125:2349-58.
47. Minculescu L, Sengelov H. The role of gamma delta T cells in haematopoietic stem cell transplantation. *Scand J Immunol*. 2015;81:459-68.
48. Perruccio K, Tosti A, Burchielli E, Topini F, Ruggeri L, Carotti A, et al. Transferring functional immune responses to pathogens after haploidentical hematopoietic transplantation. *Blood*. 2005;106:4397-406.
49. Martelli MF, Di Ianni M, Ruggeri L, Pierini A, Falzetti F, Carotti A, et al. "Designed" grafts for HLA-haploidentical stem cell transplantation. *Blood*. 2014;123:967-73.
50. Bonini C, Ferrari G, Verzeletti S, Servida P, Zappone E, Ruggieri L, et al. HSV-TK gene transfer into donor lymphocytes for control of allogeneic graft-versus-leukemia. *Science*. 1997;276:1719-24.
51. Parmesar K, Raj K. Haploidentical Stem Cell Transplantation in Adult Haematological Malignancies. *Adv Hematol*. 2016;2016:3905907.
52. Lu DP, Dong L, Wu T, Huang XJ, Zhang MJ, Han W, et al. Conditioning including antithymocyte globulin followed by unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow transplantation can achieve comparable outcomes with HLA-identical sibling transplantation. *Blood*. 2006;107:3065-73.
53. Wang Y, Liu QF, Xu LP, Liu KY, Zhang XH, Ma X, et al. Haploidentical vs identical-sibling transplant for AML in remission: a multicenter, prospective study. *Blood*. 2015;125:3956-62.
54. Huang XJ, Liu DH, Liu KY, Xu LP, Chen H, Han W, et al. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation without in vitro T-cell depletion for the treatment of hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant*. 2006;38:291-7.
55. Chen HR, Ji SQ, Wang HX, Yan HM, Zhu L, Liu J, et al. Humanized anti-CD25 monoclonal antibody for prophylaxis of graft-vs-host disease (GVHD) in haploidentical bone marrow transplantation without ex vivo T-cell depletion. *Exp Hematol*. 2003;31:1019-25.
56. Ji SQ, Chen HR, Yan HM, Wang HX, Liu J, Zhu PY, et al. Anti-CD25 monoclonal antibody (basiliximab) for prevention of graft-versus-host disease after haploidentical bone marrow transplantation for hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant*. 2005;36:349-54.
57. Di Bartolomeo P, Santarone S, De Angelis G, Picardi A, Cudillo L, Cerretti R, et al. Haploidentical, unmanipulated, G-CSF-primed bone marrow transplantation for patients with high-risk hematologic malignancies. *Blood*. 2013;121:849-57.
58. Wang Y, Liu DH, Xu LP, Liu KY, Chen H, Chen YH, et al. Superior graft-versus-leukemia effect associated with transplantation of haploidentical compared with HLA-identical sibling donor grafts for high-risk acute leukemia: an historic comparison. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011;17:821-30.
59. Huang XJ, Liu DH, Liu KY, Xu LP, Chen H, Han W, et al. Treatment of acute leukemia with unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15:257-65.
60. Sun YQ, Wang J, Jiang Q, Xu LP, Liu DH, Zhang XH, et al. Haploidentical hematopoietic SCT may be superior to conventional consolidation/maintenance chemotherapy as post-remission therapy for high-risk adult ALL. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50:20-5.
61. Alpdogan O, Grosso D, Flomenberg N. Recent advances in haploidentical stem cell transplantation. *Discov Med*.

- 2013;16:159-65.
62. Luznik L, Jones RJ, Fuchs EJ. High-dose cyclophosphamide for graft-versus-host disease prevention. *Curr Opin Hematol.* 2010;17:493-9.
 63. Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ, Chen AR, Leffell MS, Zahurak M, et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, post-transplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008;14:641-50.
 64. Bashey A, Zhang X, Sizemore CA, Manion K, Brown S, Holland HK, et al. T-cell-replete HLA-haploidentical hematopoietic transplantation for hematologic malignancies using post-transplantation cyclophosphamide results in outcomes equivalent to those of contemporaneous HLA-matched related and unrelated donor transplantation. *J Clin Oncol.* 2013;31:1310-6.
 65. Ciurea SO, Zhang MJ, Bacigalupo AA, Bashey A, Appelbaum FR, Aljitan OS, et al. Haploidentical transplant with posttransplant cyclophosphamide vs matched unrelated donor transplant for acute myeloid leukemia. *Blood.* 2015;126:1033-40.
 66. Kasamon YL, Luznik L, Leffell MS, Kowalski J, Tsai HL, Bolanos-Meade J, et al. Nonmyeloablative HLA-haploidentical bone marrow transplantation with high-dose posttransplantation cyclophosphamide: effect of HLA disparity on outcome. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010;16:482-9.
 67. Chang YJ, Luznik L, Fuchs EJ, Huang XJ. How do we choose the best donor for T-cell-replete, HLA-haploidentical transplantation? *J Hematol Oncol.* 2016;9:35.
 68. Gragert L, Eapen M, Williams E, Freeman J, Spellman S, Baitty R, et al. HLA match likelihoods for hematopoietic stem-cell grafts in the U.S. registry. *N Engl J Med.* 2014;371:339-48.
 69. Raiola AM, Dominiotto A, di Grazia C, Lamparelli T, Gualandi F, Ibatici A, et al. Unmanipulated haploidentical transplants compared with other alternative donors and matched sibling grafts. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20:1573-9.

Θρόμβωση στη νεογνική και παιδική ηλικία

ANNA KOMITOPOYLOU¹, ELENH PLATOKOYKH²

¹Επιστημονικός Συνεργάτης, ²Παιδίατρος, Συντονίστρια Διευθύντρια, Μονάδα Αιμορραγικών Διαθέσεων και του Κέντρου Αιμορροφιλίας Παιδιών, Γ.Ν. Παίδων «Η Αγία Σοφία», Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η θρομβοεμβολική νόσος είναι σπάνια κατά την παιδική ηλικία. Η ετήσια επίπτωση σε παιδιά υπολογίζεται περίπου 0.7 περιστατικά φλεβικής θρόμβωσης ανά 100.000 πληθυσμού, 1.0 εγκεφαλικά επεισόδια και 0.1 εμφράγματα μυοκαρδίου, ενώ στους ενήλικες 40-54 ετών η επίπτωση αναφέρεται 74.2, 45.4 και 175.6 περιπτώσεις, αντιστοίχως¹⁻². Στα παιδιά δεν έχει παρατηρηθεί διαφορά στη επίπτωση των θρομβοεμβολικών επεισοδίων ανάμεσα στα φύλα³⁻⁴ ανάλογη αυτής των ενηλίκων, εκτός από σχετική υπεροχή των αγοριών σε έμφρακτα του ΚΝΣ και αυξημένη συχνότητα που παρουσιάζουν τα αγόρια (διπλάσια συχνότητα) σε θρομβώσεις της νεφρικής φλέβας^{1,5-6}.

Η προστασία από την εμφάνιση θρομβωτικού επεισοδίου (ΘΕ) στα παιδιά σε σχέση με τους ενήλικες αποδίδεται κυρίως στην ακεραιότητα των αγγείων και την ενισχυμένη αντιπηκτική δραστηριότητα του ενδοθηλίου, καθώς και στη μειωμένη ικανότητα παραγωγής θρομβίνης, την αυξημένη αδρανιοποίηση της θρομβίνης από την α₂ μακροσφαιρίνη, η αυξημένη συγκέντρωση της οποίας αντιρροπεί τη φυσιολογική ανεπάρκεια της αντιθρομβίνης και των πρωτεϊνών C/S.

Συγκεκριμένα, οι πρωτεΐνες πήξεως FII, FVII, FIX, FX βρίσκονται στα παιδιά στο 50% των συγκεντρώσεων των αντίστοιχων πρωτεϊνών στο πλάσμα των ενηλίκων. Γενικότερα, οι πρωτεΐνες πήξεως αυξάνουν γρήγορα τις πρώτες εβδομάδες της ζωής και φθάνουν περίπου στα επίπεδα των ενηλίκων στους πρώτους 6 μήνες της ζωής. Παρ' όλα αυτά, όμως, παραμένουν σε επίπεδα 20% χαμηλότερα σε σχέση με τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις στους ενή-

λικες⁷⁻⁸. Η ικανότητα του πλάσματος στα παιδιά να παραγάγουν θρομβίνη είναι μειωμένη, ενδεχομένως λόγω των μειωμένων επιπέδων της προθρομβίνης⁹. Η ενεργοποίηση της θρομβίνης ρυθμίζεται από τα επίπεδα της αντιθρομβίνης (AT), του συμπαραγόντα της ηπαρίνης (Heparin Cofactor II, HCII) και της α2 μακροσφαιρίνης (α2M) που αποτελούν και τους άμεσους ανασταλτές της. Η α2 μακροσφαιρίνη είναι αυξημένη στη γέννηση, ενώ στους 6 μήνες ζωής η τιμή της είναι διπλάσια από του ενήλικα και παραμένει σε αυξημένα επίπεδα μέχρι την ηλικία των 30 ετών. Συνεπώς, η αυξημένη συγκέντρωση α2M στα παιδιά αντιρροπίζει τη φυσιολογική ανεπάρκεια της αντιθρομβίνης και των πρωτεϊνών C/S και συμβάλλει στη χαμηλή συχνότητα των θρομβωτικών επεισοδίων⁸⁻¹⁰. Επιπροσθέτως, έχουν ανευρεθεί μειωμένα επίπεδα ιστικού παράγοντα (Tissue Factor, TF) στο αίμα του ομφάλιου λώρου⁸, ενώ η λειτουργικότητα του ενδοθηλίου των αγγείων, το οποίο έχει αντιθρομβωτικές ιδιότητες, λόγω των εικοσανοειδών (eicosanoids) και των πρωτεογλυκανών (proteoglycans), φαίνεται να εξαρτάται από την ηλικία⁸.

Η επίπτωση των θρομβοεμβολικών επεισοδίων (ΘΕ), πάντως, είναι υψηλότερη στα νεογνά σε σχέση με παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας^{4-5,11-15}. Περίπου το 10% των ΘΕ συμβαίνουν τις τέσσερις πρώτες εβδομάδες ζωής, συχνότερα σε βαρέως πάσχοντα νεογνά (2.4 περιπτώσεις συμπτωματικού ΘΕ ανά 1000 εισαγωγές σε Μονάδες Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών-MENN). Η επίπτωση συμπτωματικής φλεβοθρόμβωσης (VTE) σε νεογνά είναι 5.1/100.000 γεννήσεις. Αν και θεωρείται ότι τα ΘΕ υποδιαγιγνώσκονται, τα νεογνά έχουν σχεδόν 40 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να

υποστούν ΘΕ απ' όση στη διάρκεια όλης της παιδικής ηλικίας, αλλά οπωσδήποτε σημαντικά μικρότερη από τους ενήλικες.

Το αιμοστατικό σύστημα, όσο σε πρόωρα όσο και σε τελειόμηνα νεογνά, διαφέρει σημαντικά από αυτό μεγαλύτερων παιδιών και πολύ περισσότερο από αυτό των ενηλίκων, όμως, υπό φυσιολογικές συνθήκες, τα νεογνά δεν έχουν προδιάθεση ούτε για αιμορραγία ούτε για θρόμβωση. Η αυξημένη επίπτωση των ΘΕ σε άρρωστα νεογνά αποδίδεται στην -από ποικίλα αίτια- εύκολη εκτροπή της ισορροπίας του αιμοστατικού μηχανισμού, λόγω, ενδεχομένως, των ούτως ή άλλως χαμηλότερων συγκεντρώσεων των φυσικών ανασταλτών και της μειωμένης ινωδολυτικής δραστηριότητας, καθώς και των αυξημένων επιπέδων του παράγοντα von Willebrand. Ο συνδυασμός των ανωτέρω α) με τη μεγάλη πυκνότητα του αίματος εξ αιτίας του υψηλού αιματοκρίτη και β) της μικρής διαμέτρου των αγγείων που έχει ως αποτέλεσμα αργή τριχοειδική ροή επί συνυπάρξεως αφυδάτωσης ή υπερπηκτικής κατάστασης επί ασφυξίας, λοίμωξης, προωρότητας ή εργώδους τοκετού αποτελούν επιπλέον αίτια για θρομβώσεις στα νεογνά. Επιπλέον, η τοποθέτηση και χρήση καθετήρων αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου για θρόμβωση στη νεογνική περίοδο. Σήμερα, 15% του συνόλου των νεογνών σε Μονάδες Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών και τουλάχιστον 50% προώρων με βάρος γέννησης <1000 gr φέρουν καθετήρα στην ομφαλική φλέβα^{4-5,11-16}. Περίοδο αυξημένου κινδύνου για εκδήλωση ΘΕ στα παιδιά αποτελεί, επίσης, η εφηβική ηλικία, ενδεχομένως λόγω των ορμονικών αλλαγών που συμβαίνουν στη διάρκειά της^{11-13,17}.

Η θρόμβωση στα παιδιά είναι πολυπαραγοντικό φαινόμενο, αποτέλεσμα επίκτητων (>90% των περιπτώσεων) ή συγγενών παραγόντων κινδύνου. Για την εκδήλωση ΘΕ απαιτείται η συγκυριακή συμβολή πολλών παραγόντων κινδύνου (ποικίλα υποκείμενα νοσήματα ή καταστάσεις, διάφορα εκλυτικά αίτια, στο παιδί ή στη μητέρα αν πρόκειται για νεογνό). Οι μέχρι σήμερα μελέτες δεν έχουν αποκαλύψει τη συμβολή θρομβοφιλικών παραγόντων στην εμφάνιση ασυμπτωματικών ή συμπτωματικών ΘΕ. Γενετικοί παράγοντες συσχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης ΘΕ, όμως δεν έχει αποδειχθεί αιτιολογική συσχέτιση για τους περισσότερους από αυτούς.

Η συχνότητα ανεύρεσης θρομβοφιλικών παραγόντων σε παιδιά με ΘΕ αναφέρεται 13-79% σε διάφορες μελέτες. Η τεράστια διακύμανση αποδίδεται σε ποικιλομορφία στο σχεδιασμό των μελετών και στον ορισμό των συγγενών προθρομβωτικών διαταραχών, καθώς και στο μικρό αριθμό και τους

διαφορετικούς πληθυσμούς των ασθενών. Όσον αφορά στα ΘΕ του ΚΝΣ, και παρά το γεγονός της μεγάλης συχνότητας ιδιοπαθών αρτηριακών ισχαιμικών επεισοδίων (arterial ischaemic stroke – AIS) ο επιπολασμός των θρομβοφιλικών παραγόντων κυμαίνεται σε διάφορες μελέτες από 20-50%, ενώ αυξημένη φαίνεται ότι είναι η πιθανότητα παρουσίας συγγενούς θρομβοφιλικού παράγοντα σε νεογνά με θρόμβωση νεφρικής, ηπατικής ή πυλαίας φλέβας. Εξ άλλου, θρομβοφιλία της μητέρας έχει συσχετισθεί με την εμφάνιση περιγεννητικού AIS (arterial ischaemic stroke), θρόμβωση φλεβωδών κόλπων του εγκεφάλου ή θρόμβωση νεφρικής φλέβας¹⁸⁻²⁴.

Εντόπιση θρομβώσεων

Θρόμβωση Κεντρικού Νευρικού Συστήματος

Η επίπτωση θρόμβωσης του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) στα νεογνά αναφέρεται 12/100.000 ανά έτος. Το ΚΝΣ αποτελεί τη συχνότερη θέση ΘΕ κατά την παιδική ηλικία (2.1-13 άτομα/100.000 ανά έτος), 30% των οποίων συμβαίνει κατά την περιγεννητική περίοδο. Τα ΘΕ είναι συχνότερα στα αγόρια. Αναφέρονται διαφυλετικές διαφορές (κατά σειρά συχνότητας: Αφροαμερικανοί> Καυκάσιοι> Λατινοαμερικανοί> Ασιάτες). Οι θρομβώσεις αφορούν είτε στις εγκεφαλικές αρτηρίες (αρτηριακό εγκεφαλικό επεισόδιο-ΑΕΕ), είτε στο εγκεφαλικό φλεβικό σύστημα (cerebral sinus venous thrombosis-CSVT). Η συχνότητα των ΘΕ των φλεβωδών κόλπων είναι 0.67/100.000 άτομα ανά έτος και εμφανίζεται ως επί το πλείστον στα νεογνά και στα βρέφη. CSVT στην παιδική ηλικία είναι σπανιότερη (0.25-0.67 /100.000 παιδιά). Σπασμοί αποτελούν την κύρια κλινική εκδήλωση. Στην εκδήλωση ΑΕΕ, ενδέχεται να εμπλέκονται ποικίλοι παράγοντες όπως περιγεννητική ασφυξία, συγγενείς καρδιοπάθειες, λοιμώξεις, τραυματισμοί, αφυδάτωση. Η θρόμβωση του ΚΝΣ επιπλέκεται συχνά από σημαντική θνητότητα (3-29%) και σοβαρά νευρολογικά συμβάματα (30-80% των επιζώντων), αναλόγως της ηλικίας εμφάνισης και του σκέλους της κυκλοφορίας που έχει εμπλακεί όπως φαίνεται από μελέτες μικρού αριθμού παιδιών²²⁻³³.

Για τη διάγνωση θρομβώσεων του ΚΝΣ η μαγνητική τομογραφία (MRI) αποτελεί την εξέταση επιλογής και υπερέρχει έναντι της αξονικής τομογραφίας (CT scan) μιας και απεικονίζει τη ροή και τη στάση του αίματος πρωιμότερα από την CT και σε συνδυασμό με την μαγνητική αγγειογραφία (MRA) αποτελούν την πιο ευαίσθητη μέθοδο ανάδειξης της θρόμβωσης. Πλεονέκτημα της MRA είναι ότι αποτελεί μη επεμβατική

μέθοδο και μπορεί να διενεργηθεί ταυτόχρονα με την MRI, μειονέκτημα όμως της μεθόδου είναι η αδυναμία απεικόνισης ανωμαλιών σε μικρού ή μεσαίου μεγέθους αγγεία. Σε μικρά βρέφη με ανοικτή πρόσθια πηγή, το υπερηχογράφημα αποτελεί απλή, γρήγορη και ασφαλή εξέταση.

Περιγεννητική Θρόμβωση ΚΝΣ

ΑΕΕ μπορεί να συμβεί κατά την περιγεννητική περίοδο (ενδομητρίως σε έμβρυα από 28 εβδομάδων κύησης έως νεογνά 7 ημερών). Αναφέρεται συχνότητα 1/4000 τελειόμηνων νεογνών ανά χρόνο ή 1/2800-1/5000 γεννήσεις ζώντων νεογνών. Αναλόγως του χρόνου διάγνωσης, το περιγεννητικό ΑΕΕ χαρακτηρίζεται ως **εμβρυϊκό** (Fetal Ischaemic Stroke-FIS), εφ' όσον αποκαλυφθεί είτε προ της γέννησης με απεικονιστική μέθοδο είτε επί μη ζώντος εμβρύου με νεκροτομή, ως **νεογνικό** (Neonatal Ischaemic Stroke-NIS), εφ' όσον διαγνωσθεί μετά τη γέννηση ή προ της 28^{ης} ημέρας ζωής προκειμένου περί προώρων νεογνών και τέλος, **υποψιαζόμενο ως περιγεννητικό** (Presumed Perinatal Ischaemic Stroke-PPIS), σε βρέφη >28 ημερών, στα οποία εικάζεται (αλλά δεν είναι βέβαιο) ότι το ΑΕΕ συνέβη κάποια στιγμή μεταξύ ίσως και 20^{ης} εβδομάδας κύησης έως 28^{ης} ημέρας μετά τη γέννηση. Περίπου 40% των παιδιών δεν εμφανίζουν ειδική συμπτωματολογία, οπότε σε μεγαλύτερα παιδιά το περιγεννητικό ΑΕΕ αναγνωρίζεται μόνον αναδρομικά, λόγω της αναδυόμενης εμφάνισης ημιπάρεσης/ημιπληγίας, επεισοδίων σπασμών μετά τους πρώτους μήνες ζωής, διαταραχών λόγου, κλπ. Το περιγεννητικό ΑΕΕ αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες συγγενούς εγκεφαλικής παράλυσης³⁴⁻³⁸. Δύο είναι οι κύριες υποθέσεις για την ανάπτυξη περιγεννητικού ΑΕΕ. Είτε είναι εμβολικό, από θρόμβο προερχόμενο από τον πλακούντα που διέφυγε μέσω του ανοικτού ωοειδούς τρήματος, είτε αποτέλεσμα τραυματισμού, από κάκωση των αρτηριών τραχήλου-εγκεφάλου στη διαδικασία του τοκετού που προκαλεί τη δημιουργία θρόμβου/εμβόλου. Η διάγνωση τεκμηριώνεται με υπερηχογράφημα (λόγω της ανοικτής πρόσθιας πηγής) και μαγνητική τομογραφία (MRI), η οποία, αναλόγως του χρόνου που θα γίνει, έχει διαγνωστική (μπορεί να πιθανολογήσει κανείς το χρόνο εγκατάστασης του ΑΕΕ), αλλά και προγνωστική αξία.

Θρομβοφιλία και θρόμβωση ΚΝΣ

Σχετικώς με τη συμβολή θρομβοφιλικών παραγόντων στη θρόμβωση του ΚΝΣ στην παιδική

ηλικία³⁹⁻⁴¹, αποτελέσματα από την πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση 22 μελετών⁴², η οποία είχε στόχο την εκτίμηση της συμμετοχής θρομβοφιλικού παράγοντα στον κίνδυνο εμφάνισης πρώτου επεισοδίου ΑΕΕ σε παιδιά ηλικίας από νεογνά έως 18 ετών, φαίνεται να υποδεικνύουν αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης εγκεφαλικού επεισοδίου (είτε αρτηριακού είτε φλεβικού, αδιακρίτως) στους ασθενείς που είχαν κληρονομικό ή επίκτητο παράγοντα θρομβοφιλίας σε σχέση με τους μάρτυρες. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι ασθενείς με ανεπάρκεια φυσικών ανασταλτών ή παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (ΑΡΑ) ή αυξημένα επίπεδα α-λιποπρωτεΐνης είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα (ανεπάρκεια ΑΤ, ΡC, ΡS: Ο.Ρ. 7.06, 8.76, 3.20, αντιστοίχως και ΑΡΑ: Ο.Ρ. 6.95 ή Lp(a): Ο.Ρ. 6.27), και ακολουθούσαν οι φορείς των μεταλλάξεων FVLeiden και FII G20210A (Ο.Ρ. 3.26 και 2.43, αντιστοίχως στο σύνολο των ασθενών, ενώ 3.56 και 2.02, αντιστοίχως σε ασθενείς με περιγεννητικό ΑΕΕ). Συνδυασμός θρομβοφιλικών παραγόντων βρέθηκε να αυξάνει σημαντικά τις πιθανότητες για εκδήλωση πρώτου επεισοδίου στο ΚΝΣ (Ο.Ρ. 11.86). Από μελετηθέν υλικό της Μονάδας Αιμορραγικών Διαθέσεων (ΜΑΔ) του Νοσοκομείου Παίδων «Αγία Σοφία» διαπιστώθηκε ότι η παρουσία FVLeiden και αυξημένων επιπέδων προθρομβίνης σχετίζεται με αυξημένη επίπτωση θρομβώσεων του ΚΝΣ⁴³⁻⁴⁴. Γενετικοί παράγοντες θρομβοφιλίας (ανεπάρκεια ΡC, φορεία FV Leiden ή FII G20210A) έχουν συσχετισθεί σε παλαιότερες μελέτες με υποτροπή ΑΙS σε παιδιά, όμως η συμβολή τους δεν φάνηκε να επιβεβαιώνεται από τα ευρήματα της μετα-ανάλυσης⁴²⁻⁴⁵.

Εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση (Deep Vein Thrombosis-DVT)

Η DVT στα παιδιά εμφανίζεται με συχνότητα 0,05-0,07/10000 άτομα/χρόνο και, εκδηλώνεται κυρίως στα νεογνά και στους εφήβους, ενώ αφορά σε 5,3/10000 εισαγωγές παιδιών στο νοσοκομείο^{5,11}. Υποτροπή αναφέρεται σε 7.5% των παιδιών⁴⁶. Μέχρι την ηλικία του ενός έτους η DVT συνδέεται με τη χρήση κεντρικών φλεβικών καθετήρων (Central Venous Lines – CVL) σε ποσοστό 90%^{1,3}. Οι συγκεκριμένοι καθετήρες είναι απαραίτητοι για τη χορήγηση παρεντερικής διατροφής και παραγώγων αίματος ή υγρών. Παρόλο που οι κεντρικές γραμμές έχουν βελτιώσει πολύ την ποιότητα ζωής των ασθενών που έχουν ανάγκη χορήγησης των συγκεκριμένων θεραπειών, είναι δυνατόν να προκαλέσουν επιπλοκές, όπως θρομβώσεις. Η συχνότητα των θρομβώσεων από τη χρήση των CVLs είναι 3-5 περιστατικά ανά 10000

εισαγωγές στο νοσοκομείο. Έως 80% των DVT, κυρίως στα νεογνά, αφορούν στο ανώτερο φλεβικό δίκτυο. Αντιθέτως, DVT μη σχετιζόμενη με CVL συμβαίνει στα κάτω άκρα. Οι μηχανισμοί που πιθανόν παίζουν ρόλο στο σχηματισμό θρόμβου μέσα στον καθετήρα είναι η καταστροφή του αγγειακού ενδοθηλίου από τον καθετήρα, η έγχυση μέσω του καθετήρα ουσιών που μπορεί να είναι θρομβογόνες ή τα θρομβογόνα υλικά του ίδιου του καθετήρα. Οι καθετήρες που συνήθως (70%) συνδέονται με DVT είναι αυτοί που περιέχουν πολυαιθυλένιο, ενώ αυτοί που περιέχουν σιλικόνη και πολυουραιθάνιο σχετίζονται με θρομβώσεις σε ποσοστό 20% και 17% αντιστοίχως. Η παρουσία CVL είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας κινδύνου για πνευμονική εμβολή⁴⁷⁻⁴⁹. Οι κλινικές εκδηλώσεις της θρόμβωσης, σχετίζονται με την εντόπιση του θρόμβου. Καθετήρες στην υποκλείδιο και στην άνω κοίλη φλέβα μπορούν να προκαλέσουν σύνδρομο άνω κοίλης φλέβας, χυλοθώρακα, οίδημα άκρου. Λαγονομηριαία θρόμβωση μετά από την τοποθέτηση καθετήρα στη μηριαία φλέβα μπορεί να προκαλέσει επίσης οίδημα του άκρου ή επέκταση της θρόμβωσης στην κάτω κοίλη φλέβα. Η χρήση υπερήχου είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος διάγνωσης των συγκεκριμένων θρομβώσεων.

Θρόμβωση νεφρικής φλέβας (Renal Vein Thrombosis-RVT)

Η θρόμβωση της νεφρικής φλέβας είναι η πιο συχνή θρόμβωση μη σχετιζόμενη με κεντρικούς φλεβικούς καθετήρες τα νεογνά. Η επίπτωση της αναφέρεται 2.2/100000 γεννήσεις. Αποτελεί το 10% του συνόλου των θρομβοεμβολικών επεισοδίων. Εμφανίζεται με συχνότητα 2:1 στα άρρενα νεογνά σε σχέση με τα θήλεα, κατά κανόνα την πρώτη εβδομάδα ζωής. Περίπου 1/3 των RVT αφορά σε πρόωρα νεογνά, ενώ 25% περίπου των θρομβώσεων της νεφρικής φλέβας είναι αμφοτερόπλευρες⁵⁰. Η αργή τριχοειδική ροή¹ σε συνδυασμό με αφυδάτωση ή προθρομβωτικούς παράγοντες, στο πλαίσιο σήψης/σηπτικού shock, κυανωτικής συγγενούς καρδιοπάθειας, ασφυξίας ή μητρικού διαβήτη ευοδώνει τη θρόμβωση. Η θρόμβωση της νεφρικής φλέβας μπορεί να προβάλλει ως ψηλαφητή μάζα, ενώ το νεογνό μπορεί να εμφανίζει υπέρταση, αιματοουρία ή θρομβοπενία. Η RVT είναι δυνατόν να προκαλέσει μη αναστρέψιμη νεφρική βλάβη. Υπερηχογράφημα, ως μη παρεμβατική, αποτελεί την κατ' εξοχήν αρχική διαγνωστική δοκιμασία.

Παλαιότερη πολυκεντρική μελέτη⁵¹ έχει αναδείξει τη στατιστικώς σημαντική συμβολή γενετικών

θρομβοφιλικών παραγόντων σε νεογνά με RVT σε σχέση με υγιείς μάρτυρες (O.R: 10.9, C.I 3.85-31.1, $p < 0.0001$), καθώς και με θρόμβωση πυλαίας (5.47/1.7-17.6, $p < 0.0007$). Ο ρόλος των παραγόντων αυτών για υποτροπή δεν έχει τεκμηριωθεί.

Αρτηριακή Θρόμβωση

Αρτηριακή θρόμβωση σε νεογνά είναι σχεδόν αποκλειστικά ιατρογενής^{6,52}, συνδεδεμένη με αρτηριακούς καθετήρες και σχετίζεται με το μήκος, τη διάμετρο, το υλικό του καθετήρα και τη διάρκεια παραμονής στην αρτηρία. Αρτηριακοί καθετήρες σε νεογνά τοποθετούνται για διαγνωστικούς και θεραπευτικούς σκοπούς, όπως συμβαίνει σε καρδιακό ή ομφαλικό καθετηριασμό, ή σε περιφερικούς αρτηριακούς καθετήρες. Ειδικότερα, η θρόμβωση που αφορά σε ομφαλικούς καθετήρες⁵³ συνοδεύεται από θρόμβωση των τοπικών αγγείων, νεκρωτική εντεροκολίτιδα και εμβολικά επεισόδια των κάτω άκρων. Οι μακροχρόνιες επιπλοκές των συγκεκριμένων θρομβώσεων αφορούν κυρίως σε νεφρική δυσλειτουργία ή ανισοσκελία και πολλές φορές απαιτούν επείγουσα αντιμετώπιση λόγω του κινδύνου ενδεχόμενου ακρωτηριασμού του άκρου.

Αρτηριακές θρομβώσεις μη σχετιζόμενες με καθετήρα είναι σπάνιες στα παιδιά^{21,52,54}. Αφορούν κυρίως σε αρτηρίτιδα Takayasu, σε νόσο Kawasaki, σε στεφανιαία ανευρύσματα, ενώ αρτηριακές θρομβώσεις εμφανίζονται ως επιπλοκή συγγενούς καρδιοπάθειας. Θρόμβωση μεσεντερικών αρτηριών μπορεί να εμφανιστεί μετά από χειρουργικές επεμβάσεις στην κοιλιά ή σε νόσο Crohn. Η αρτηριακή θρόμβωση των άκρων εκδηλώνεται με ψυχρό, ωχρο άκρο με μειωμένο ή απόντα σφυγμό, συστοίχως. Η ύπαρξη θρόμβωσης στο δεξιό κόλπο σχετίζεται κυρίως με την ύπαρξη CVL, ενώ κλινικά εκδηλώνεται με καρδιακή ανεπάρκεια, ΠΕ και εμμένουσα σηψαιμία. Για τη διάγνωση του θρομβωτικού επεισοδίου συνήθως επιλέγεται η χρήση του Doppler ή της αγγειογραφίας.

Θρομβώσεις σχετιζόμενες ειδικώς με νεογνά και παιδιά

Κεραυνοβόλος Πορφύρα

Σε νεογνά με ομόζυγη ανεπάρκεια πρωτεΐνης C ή S, εμφανίζεται εκτεταμένη θρόμβωση με κεραυνοβόλο πορφύρα. Εμφανίζεται ως επί το πλείστον εντός του 1^{ου} 24ώρου της ζωής με απειλητική για τη ζωή κλινική εικόνα, η οποία εκδηλώνεται με δερματικές νεκρώσεις κυρίως και εργαστηριακή εικόνα διάχυτης ενδαγγειακής πήξης⁵⁴⁻⁵⁵.

Νόσος Kawasaki

Στην οξεία φάση, η νόσος μπορεί να προκαλέσει αρτηρίτιδα μεσαίων και μεγάλων αγγείων, αρτηριακά ανευρύσματα, βαλβιδοπάθεια και μυοκαρδίτιδα. Αποτελεί την πρώτη αιτία επίκτητης καρδιακής νόσου στα παιδιά στη Βόρεια Αμερική. Ανευρύσματα στις στεφανιαίες αρτηρίας αναπτύσσονται σε 15-25% των παιδιών που δεν λαμβάνουν θεραπεία και μπορεί να οδηγήσουν σε έμφραγμα μυοκαρδίου, αιφνίδιο θάνατο ή χρόνια ανεπάρκεια στεφανιαίων αρτηριών⁵⁴⁻⁵⁶.

Συμμετοχή κληρονομικών θρομβοφιλικών παραγόντων στην εμφάνιση ΘΕ

Σημαντικοί κληρονομικοί θρομβοφιλικό παράγοντες θεωρούνται η ανεπάρκεια των πρωτεϊνών C και S και αντιθρομβίνης (AT), καθώς επίσης και η παρουσία των μεταλλάξεων FVLeiden και FII201210A. Η συχνότητα της ανεπάρκειας των φυσικών ανασταλτών στο γενικό πληθυσμό είναι μικρή (0.02-0.4%), ενώ η παρουσία ετεροζυγωτίας FVLeiden και FII201210A ανιχνεύεται σε 5-8% και 1-3% της Καυκάσιας φυλής αντιστοίχως. Η ετεροζυγωτία FVLeiden αυξάνει τον σχετικό κίνδυνο για θρόμβωση κατά 7 φορές περίπου, ενώ η ομοζυγωτία κατά 80. Μόνο όμως το 10% των φορέων αναπτύσσει θρόμβωση στη διάρκεια της ζωής του. Η φορεία FII201210A φαίνεται να τριπλασιάζει την πιθανότητα θρομβοεμβολικού επεισοδίου. Ο συνδυασμός δύο ή περισσότερων θρομβοφιλικών παραγόντων έχει την τάση να αυξάνει την πιθανότητα θρόμβωσης. Η παρουσία κληρονομικών θρομβοφιλικών παραγόντων σχετίζεται κυρίως με θρόμβωση της νεφρικής ή της πυλαίας φλέβας, ενώ δεν σχετίζεται με τη θρόμβωση κεντρικών καθετήρων^{15,31-45}.

Νεογνά και παιδιά με θρόμβωση, θα πρέπει να ελέγχονται για το ενδεχόμενο συνύπαρξης κληρονομικής θρομβοφιλίας, παρ' όλο που η επιβεβαίωση της παρουσίας κληρονομικών προθρομβωτικών παραγόντων δεν αλλάζει τους θεραπευτικούς χειρισμούς, πλην της περίπτωσης της ομόζυγης ανεπάρκειας πρωτεΐνης C ή S, της οποίας η διάγνωση απαιτεί άμεση παρέμβαση με υποκατάσταση της ανεπαρκούς πρωτεΐνης. Ταυτοχρόνως, προσοχή απαιτείται σε ότι αφορά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων του εργαστηριακού ελέγχου, διότι τα νεογνά παρουσιάζουν ούτως ή άλλως χαμηλότερα επίπεδα φυσικών ανασταλτών. Ιδιοπαθής θρόμβωση είναι σπάνια στα νεογνά και σχεδόν πάντοτε επί παρουσίας κληρονομικού παράγοντα συνυπάρχει ισχυρό εκλυτικό αίτιο ή υποκείμενο νόσημα το οποίο ευθύνεται κυρίως για την εκδήλωση της θρόμβωσης^{15,31-45,54}.

Σε ό,τι αφορά στην υποτροπή των ΘΕ, από τις μέχρι τώρα μελέτες διαφαίνεται ότι οι περισσότεροι θρομβοφιλικό παράγοντες αποτελούν ασθενείς παράγοντες κινδύνου για υποτροπή και ότι μεγαλύτερος παράγοντας κινδύνου για επανεμφάνιση ΘΕ, θεωρείται προηγηθέν ΘΕ^{31-45,54,57-60}.

Απώτερες επιπλοκές

Το μεταφλεβιτιδικό σύνδρομο (post phlebitis syndrome-PTS) αποτελεί απώτερη επιπλοκή μετά από ΘΕ. Είναι δυνατόν να εμφανιστεί 5-10 έτη μετά από ένα αρχικό επεισόδιο θρόμβωσης. Εκδηλώνεται με οίδημα, πόνο, δυσχρωματισμό του άκρου, έλκη, σκλήρυνση του δέρματος. Τα νεογνά έχουν αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης PTS διότι το ινωδολυτικό τους σύστημα ανεπαρκεί⁷⁻⁸. Υποτροπή αναφέρεται σε 6-20% των παιδιών με DVT και συνήθως συμβαίνει 3.5 χρόνια μετά τη διακοπή της θεραπείας. Στην πιθανότητα υποτροπής, η οποία είναι δυνατόν να εμφανισθεί και με τη μορφή της πνευμονικής εμβολής, ενδέχεται να συμβάλει η ύπαρξη κληρονομικών προθρομβωτικών παραγόντων. Επιπλέον επιπλοκές, όπως επεισόδια αιμορραγίας, μπορούν να σχετίζονται με τη λήψη της αντιπηκτικής αγωγής, ενώ η θρόμβωση των ομφαλικών καθετήρων ενδεχομένως συνδέεται με ανάπτυξη πυλαίας υπέρτασης. Η θνητότητα λόγω θρόμβωσης υπολογίζεται στο 1-2.5%, αλλά το ποσοστό αυτό είναι δυνατόν να αυξηθεί σημαντικά όταν συνυπολογίζεται η θνητότητα λόγω της υποκείμενης νόσου⁷⁻⁸.

Μητρικοί παράγοντες σχετιζόμενοι με θρόμβωση

Παράγοντες σχετιζόμενοι με υποκείμενα νοσήματα ή καταστάσεις σχετιζόμενες με την εγκυμοσύνη της μητέρας, είναι δυνατόν να συμβάλλουν στην εκδήλωση θρομβώσεων στα νεογνά. Παράγοντες όπως ο ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης, αυτοάνοσα νοσήματα της μητέρας, επίκτητη ή κληρονομική θρομβοφιλία της μητέρας, χοριοαμνιονίτιδα, ολιγουδράμνιο, προεκλαμψία, το κάπνισμα, η προχωρημένη ηλικία κύησης φαίνεται να σχετίζονται με θρομβώσεις στα νεογνά. Επιπροσθέτως, η παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (LA-lupus anticoagulant, anticardiolipin antibodies-ACA, αντισωμάτων έναντι β2-γλυκοπρωτεΐνης-anti-β2GPI) σχετίζεται συχνά με επιπλοκές της κύησης. Μεταφορά των αντιφωσφολιπιδικών αυτοαντισωμάτων από τη μητέρα στο έμβρυο συμβαίνει στο 30% των νεογνών περίπου, χωρίς όμως η παρουσία των συγκεκριμένων αντισωμάτων να σχετίζεται με θρόμβωση στα νεογνά⁶¹.

Θεραπευτική Αγωγή

Για τη χορήγηση του είδους και της διάρκειας της θεραπευτικής αγωγής σε νεογνά και παιδιά συνεκτιμώνται διάφορα χαρακτηριστικά του είδους του θρόμβου (έκταση, εντόπιση), η παρουσία θρομβοφιλικών παραγόντων, ο συνδυασμός κληρονομικών παραγόντων, το κατά πόσο το ΘΕ είναι ιδιοπαθές ή μη. Ο βασικός λόγος για τον οποίο δίνεται επί μακρόν αντιπηκτική αγωγή σε ασθενείς με φλεβοθρόμβωση είναι η πρόληψη νέου ΘΕ. Σε νεογνά με ΘΕ οι οδηγίες συνιστούν είτε παρακολούθηση, είτε αντιπηκτική αγωγή, συνήθως από 6 εβδομάδες έως 3 μήνες, με εξατομίκευση ανάλογα με τα επιμέρους κλινικά και εργαστηριακά κριτήρια.

Ειδικότερα στα νεογνά, υπάρχουν ορισμένοι περιορισμοί και ιδιαιτερότητες ως προς τη χορήγηση αντιθρομβωτικής αγωγής, οι οποίοι συνίστανται στο δυναμικά εξελισσόμενο αιμοστατικό σύστημα των νεογνών, στη διαφορετική διατροφή και συμμόρφωση αυτών, στη συννοσηρότητα που συνήθως παρουσιάζουν, στη διαφορετική κινητική των φαρμάκων στον οργανισμό τους, στην αδυναμία τακτικού ελέγχου της δράσης αυτών μέσω των συχνών φλεβοκεντήσεων. Σημειώνεται ότι τα κουμαρινικά, τα οποία είναι ευρέως χρησιμοποιούμενα αντιπηκτικά στα παιδιά και τους ενήλικες, δεν χορηγούνται στα νεογνά⁵⁴.

Συμπέρασμα

Θρομβωτικά επεισόδια συμβαίνουν σπανίως στα παιδιά. Η μειωμένη ικανότητα για γένεση θρομβίνης καθώς και το ακέραιο ενδοθήλιο που δεν διευκολύνει τη θρομβογένεση, φαίνεται να δρουν προστατευτικά στα παιδιά και να αποτρέπουν την εκδήλωση ΘΕ. Εν τούτοις, τα νεογνά απ' όλες τις ομάδες της παιδικής ηλικίας, υπόκεινται στο μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης ΘΕ. Λοιμώξεις, καρδιοπάθειες, κακοήθειες, η τοποθέτηση κεντρικών φλεβικών καθετήρων, η προωρότητα, παράγοντες σχετιζόμενοι με τη μητέρα, η αφυδάτωση, φαίνεται να αποτελούν τους κυριότερους παράγοντες που ευοδώνουν τη θρόμβωση και που καθιστούν τα νεογνά ευπαθή πληθυσμό. Ταυτοχρόνως, η συμμετοχή του γενετικού υποστρώματος, κυρίως μέσω πολυμορφισμών που εμπλέκονται στην αιμόσταση, έχει αναφερθεί ότι συμβάλλει στην πιθανότητα ενδωγειακού σχηματισμού θρόμβου. Εν τούτοις, ιδιαίτερα στα νεογνά, υπάρχει σκεπτικισμός για την ερμηνεία των σχετικών αποτελεσμάτων λόγω της πολυπλοκότητας του μηχανισμού της αιμόστασης και της αλληλεπίδρασης επίκτητων παραγόντων, δεδομένο που αποδεικνύει ότι η θρόμβωση στα νεογνά είναι

πολυπαραγοντική διαδικασία. Μελλοντικές μελέτες ενδεχομένως αποσαφηνίσουν τόσο τους αιτιολογικούς παράγοντες, όσο και τους θεραπευτικούς χειρισμούς στην ομάδα αυτή των ασθενών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Rosendaal FR. Thrombosis in the young: Epidemiology and risk factors. A focus on venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1997;78:1-6.
2. Heit JA. Venous thromboembolism: disease burden, outcomes and risk factors. Review article. *J Thromb Haemost* 2005;3:1611-1617.
3. Andrew M, David M, Ali K, Anderson R, Barnard D et al. Venous thromboembolic (VTE) complications in children: first analyses of the Canadian Registry of VTE. *Blood* 1994;83:1251-7.
4. van Omen H, Heijboer H, Buller H, Hirasing R, Heijmans H, Peters M. Venous thromboembolism in childhood: A prospective two-year registry in the Netherlands. *J Pediatr* 2001;139:676-681.
5. Μάντζιου ΘΑ. Θρομβοεμβολικά επεισόδια στα παιδιά. Διδακτορική Διατριβή. Αθήνα 2004.
6. Κομποπούλου Α. Καταγραφή νέων γονιδιακών μεταλλάξεων και γενετικών πολυμορφισμών σε νεογνά και παιδιά με θρόμβωση σε ποικίλες θέσεις. Διδακτορική Διατριβή. Αθήνα 2007.
7. Hathaway W, Corrigan J. Report of scientific and standardization subcommittee on neonatal hemostasis. *Thromb Haemost* 1991;65:323-325.
8. Andrew M, Paes B, Johnston M. Development of the hemostasis system in the neonate and the young infant. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1990;12:95-104.
9. Andrew M, Schmidt B, Mitchell L, Paes B, Ofosu F. Thrombin generation in newborns plasma is critically dependent on the concentration of prothrombin. *Thromb Haemost* 1990;63:27-30.
10. Mitchell L, Piovella F, Ofosu F, Andrew M. Alpha-2-macroglobulin may provide protection from thromboembolic events in antithrombin III deficient children. *Blood* 1991;78:2299-2304.
11. Chan AK, deVeber G, Monagle P, Brooker LA, Massicotte PM. Venous thrombosis in children. *J Thromb Haemost* 2003;1:1443-1455.
12. Nowak-Gottl U, Duering C, Kempf-Bielack B, Strater R: Thromboembolic diseases in neonates and children. *Pathophysiology Haemost Thromb* 2004;33:269-274.
13. Stein PD, Kayali F, Olson RE. Incidence of venous thromboembolism in infants and children: data from the National Hospital Discharge Survey. *J Pediatr* 2004;145:563-5.
14. Corrigan J. Normal hemostasis in fetus and newborn: coagulation. In: *Fetal and neonatal physiology*. W.B.Saunders 1992;1368-1371.
15. Πλατοκούκη Ε. Θρομβοφιλία σε νεογνά και παιδιά. *Haema* 2014;5:99-106.

16. de Oliveira Gomes VA, de Luca Nascimento MA. Central venous catheterization in Pediatric and Neonatal Intensive Care Units. *Rev esc enferm* (<http://dx.doi.org/10.1590/S0080-623420130000400004>) 2013;47: Print version ISSN 0080-6234.
17. Howard SC. Pediatric Thromboembolism. *Medscape* 2015;updated 15 Feb.
18. Heller C, Schobess R, Kurnik K, et al. Abdominal venous thrombosis in neonates and infants: role of prothrombotic risk factors - a multicentre case-control study. For the Childhood Thrombophilia Study Group. *Br J Haematol* 2000;111:534-9.
19. Chalmers EA. Heritable thrombophilia and childhood thrombosis. *Blood Rev.* 2001;15:181-9.
20. Nelson K, Lynch J. Stroke in newborn infants. *Lancet* 2004;3:133-8.
21. Tormente D, Cavasso S, Rossetto V, Simioni P. Thrombosis and thrombophilia in children. A systematic review. *Semin Thromb Haemost* 2006;33:724-28.
22. Sehgal A. Perinatal Stroke: a case-based review. *Eur J Pediatr* 2011;171:225-34.
23. Chabrier S, Husson B, Dinomais M, Landrieu P, Nguyen The Tich S. New insights (and interrogation) in perinatal arterial ischemic stroke. *J Thromb Res* 2011;127:13-22.
24. Yang JY, Chan AK. Pediatric thrombophilia. *Pediatr Clin North Am* 2013;60:1443-62.
25. De Veber G, Andrew M, Adams C. Canadian Pediatric Ischemic Stroke Study Group: cerebral sinovenous thrombosis in children. *N Engl J Med* 2001;345:417-23.
26. De Veber G. Stroke and the child's brain: an overview of epidemiology, syndromes and risk factors. *Current Opin Neurol* 2002;1:1443-1455.
27. Ganesan V, Prengler M, McShane M, Wade A, Kirkham F. Investigation of risk factors in children with arterial ischemic stroke. *Ann Neurol* 2003;53:167-73.
28. Fullerton HJ, Wu YW, Zhao S, Johnston SC. Risk of stroke in children: ethnic and gender discrepancies. *Neurology* 2003;61:189-194.
29. Zahuranec DB, Brown DL, Lisabeth LD, Morgenstern LB. Is it time for a large collaborative study of paediatric stroke? *Stroke* 2005;36:1825-1829.
30. Bonduel M, Sciuccati G, Hepner M, Pieroni G, Torres AF, Frontroth JP, Tenenbaum S. Arterial ischaemic stroke in children: a 12-year Argentinian Registry. *Acta Haematol* 2006;115:180-185.
31. Everts R, Pavlovic J, Kaufmann F. Cognitive functioning, behavior, and quality of life after stroke in childhood. *Child Neuropsychol* 2008;14:323-338.
32. Aden U. Neonatal stroke is not a harmless condition. *Stroke* 2009;40:1948-9.
33. Suppiej A, Gentilomo C, Saracco P, Sartori S, Agostini M, Bagna R et al. Paediatric arterial ischaemic stroke and cerebral sinovenous thrombosis. First report from the Italian Registry of pediatric thrombosis. *Thromb Haemost* 2015;113:1159-1382.
34. Nelson KB. Perinatal ischemic stroke. *Stroke* 2007;38:742-745.
35. Raju TN, Nelson KB, Ferriero D, Lynch JK. Ischemic perinatal stroke: summary of a workshop sponsored by the National Institute of Child Health and Human Development and the National Institute of Neurological Disorders and Stroke. *Pediatrics* 2007;120:609-616.
36. Sehgal A. Perinatal Stroke: a case-based review. *Eur J Pediatr* 2011;171:225-234.
37. Kirton A, deVeber G. Life after perinatal stroke. *Stroke* 2013;44:3265-3271.
38. Ichord R. Stroke in the newborn. *Up-To-Date* July 2016.
39. Revel-Vilk SK. Thrombophilia in children with venous disease. *Thromb Res* 2006;118:59-60.
40. Klaassen I, van Ommen H, Middeldorp S. Manifestations and clinical impact of pediatric inherited thrombophilia. *Blood* 2015;125:1073-7.
41. Baglin T, Gray E, Greaves M et al. Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *Brit J Haematol* 2010;147:209-220.
42. Kenet G, Lüttkhoff LK, Albisetti M, Bernard T, Bonduel M, Brandao L et al. Impact of thrombophilia on risk of arterial ischemic stroke or cerebral sinovenous thrombosis in neonates and children: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Circulation* 2010;121:1838.
43. Komitopoulou A, Platokouki H, Kapsimali Z, Pergantou H, Adamtziki E, Aronis S. Mutations and polymorphisms in genes affecting hemostasis proteins and homocysteine metabolism in children with arterial ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 2006;22:13-20.
44. Komitopoulou A, Platokouki H, Kapsimali Z et al. Mutations and polymorphisms in genes affecting haemostasis components in children with thromboembolic disease. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2006;35:392-397.
45. Komitopoulou A. Thrombophilia and thrombotic disorders in newborn (Editorial). *Hematol and Transfus Intern J* 2016;2:MedGrave on line.
46. Gibson B, Chalmers E, Bolton-Maggs P. Thromboembolism in childhood: a prospective two year BPSU study in the United Kingdom. *J Thromb Haemost* 2003;1:OC422.
47. Revel-Vilk S: Central venous line-related thrombosis in children. *Acta Haematol* 2006;115:201-6.
48. Ruud E, Holmstrom H, Hopp E, Wesenberg F: Central line-associated venous late effects in children without prior history of thrombosis. *Acta Paediatr* 2006;95:1060-5.
49. Pergantou H, Kapsimali Z, Avgeri M, Komitopoulou A, Xafaki P, Platokouki H. Site, recurrences and outcomes of deep vein thrombosis in neonates and children. *J Thromb Haemost* 2014;12:59-60.
50. Pergantou H, Avgeri M, Komitopoulou A, Xafaki P, Kapsimali Z, Mazarakis M et al. Venous thromboembolism at uncommon sites in neonates and children. *J Pediatr Hematol Oncol* 2014;36:624-9.
51. Heller C, Nowak-Gottl U. Maternal thrombophilia and neonatal thrombosis. *Best Pract Res Clin Haematol* 2003;16:333-45.
52. Andrew M, David M, de Veber G, Brooker LA. Arterial thromboembolic complications in pediatric patients.

- Thromb Haemost 1997;78:715-725.
53. Sawyer TL. Umbilical Artery Catheterization. Medscape 2015; updated 3 Apr.
 54. Monagle P, Chan AKC, Goldenberg NA, ichord RN, Journeycake JM, Nowak-Gottl U et al. Antithrombotic therapy in neonates and children: American College of Chest Physicians (ACCP) Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (9th Edition). Chest 2012;141(Suppl):e737s-e801s.
 55. Edlich RF. Purpura Fulminans. Medscape 2015; updated 1 Oct.
 56. Patil S, Shirodkar S, Pinto RJ, Dalvi B. Giant coronary artery aneurysm with a thrombus secondary to Kawasaki disease. Ann Pediatr Cardiol 2008;1:59-61.
 57. Ho WK, Hankey GJ, Quinlan DJ, Eikelboom JW. Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with common thrombophilia: a systematic review. Arch Intern Med 2006;166:729-736.
 58. Kenet G, Nowak-Göttl U. Venous thromboembolism in neonates and children. Best Pract Res Clin Haematol. 2012;25:333-44.
 59. Klaassen ILM, van Ommen CL, Middeldorp S. Manifestations and clinical impact of pediatric inherited thrombophilia. Blood 2015;125:1073-107.
 60. Young G, Albisetti M, Bonduel M, Brandao L, Chan A, Friedrichs F et al. Impact of inherited thrombophilia on venous thromboembolism in children: a systematic review and meta-analysis of observational studies. Circulation 2008;118:1373-82.
 61. Tincani A, Rebaioli CB, Andreoli L, Lojaccono A, Motta M. Neonatal effects of maternal antiphospholipid syndrome. Curr Rheumatol Rep 2009;11:70-6.

Επίκτητη αιμορραγική διάθεση στον ηλικιωμένο ασθενή

ANNA ΚΟΥΡΑΜΠΑ

Αιματολόγος, Κέντρο Αιμοδοσίας Αιμορροφιλικών, Π.Γ.Ν. Λαϊκό, Αθήνα

Οι μεταβολές της αιμοστατικής ισορροπίας στους ηλικιωμένους ασθενείς οφείλονται σε διαταραχές των παραγόντων πήξης, της παραγωγής θρομβίνης και της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, η αύξηση των επιπέδων των παραγόντων πήξης (ινωδογόνο, V, VII, VIII, IX, XI, XIII και VWF), η επιβράδυνση του ινωδολυτικού μηχανισμού και οι αλλοιώσεις του ενδοθηλίου των αγγείων που παρατηρούνται με την πάροδο της ηλικίας προδιαθέτουν σε θρομβωτικά/ισχαιμικά επεισόδια.

Συχνά απαιτείται η χορήγηση αντιαιμοπεταλιακής/αντιπηκτικής αγωγής, η οποία μπορεί να προκαλέσει σημαντικά προβλήματα αιμορραγικής διάθεσης σε ένα γηράσκοντα πληθυσμό. Επιπλέον, η επηρεασμένη νεφρική λειτουργία, και η πιθανή συνύπαρξη άλλων προβλημάτων (σήψη, κακοήθεια) μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρή επίκτητη αιμορραγική διάθεση¹

Συνήθεις αιτίες επίκτητης αιμορραγικής διάθεσης σε ηλικιωμένους ασθενείς

- Ποσοτικές και λειτουργικές διαταραχές αιμοπεταλίων
- Αντ αιμοπεταλιακή και αντιπηκτική αγωγή
- Χρόνια Νεφρική Ανεπάρκεια
- Επίκτητη Αιμορροφιλία και Επίκτητη νόσος Von Willebrand

Ποσοτικές και λειτουργικές διαταραχές αιμοπεταλίων

Η επίκτητη θρομβοπενία, είναι συχνή αιτία αιμορραγικής διάθεσης στα ηλικιωμένα άτομα. Οι αιμορραγικές εκδηλώσεις εμφανίζονται όταν ο αριθμός των αιμοπεταλίων κυμαίνεται <50.000/μL

Συνήθεις αιτίες επίκτητης θρομβοπενίας αποτελούν:

- η ελαττωμένη παραγωγή στο μυελό των οστών: απλαστική αναιμία, μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, διήθηση μυελού από καρκινικά κύτταρα, φάρμακα (χημειοθεραπεία με χλωροθειαζίδες, τριμεθορίμη-σουλφαμεθοξαζόλη), έλλειψη Vit. B12 και
- η αυξημένη περιφερική καταστροφή/κατανάλωση αιμοπεταλίων ανοσολογικής (ITP, Φάρμακα, λοιμώξεις) ή μη ανοσολογικής αιτιολογίας (διάχυτη ενδαγγειακή πήξη).

Η κύρια αιτία αυξημένης περιφερικής καταστροφής είναι η άνοση θρομβοπενία από φάρμακα (Drug Induced Immune Thrombocytopenia, DIT), μέσω ανοσοσυμπλεγμάτων (ηπαρίνη: Heparin Induced Thrombocytopenia, HIT), η από προσρόφηση του φαρμάκου πάνω στα αιμοπετάλια (πενικιλίνη, κλοτριμοξαζόλη), η μέσω αυτοάνοσου μηχανισμού (α-μεθυλντόπα).

Οι επίκτητες ποιοτικές διαταραχές των αιμοπεταλίων εμφανίζονται σε διάφορα νοσήματα όπως μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα, παραπρωτεϊναιμίες σε ηπατική νόσο και μετά τη λήψη φαρμάκων.

Οι λειτουργικές διαταραχές των αιμοπεταλίων μπορεί να ευθύνονται για σοβαρές αιμορραγίες στους ηλικιωμένους ασθενείς και είναι συχνά φαρμακευτικής αιτιολογίας όπως:

- Φάρμακα που προκαλούν διαταραχή σύνθεσης προσταγλανδινών: ασπιρίνη και μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη, κορτικοειδή, αντιβιοτικά πενικιλίνες, κεφαλοσπορίνες β-λακτάμες
- Φάρμακα που αυξάνουν τα επίπεδα του κυκλικού cAMP: ενεργοποιητές αδενυλικής κυκλάσης, ανασταλτές φωσφοδιεστεράσης: διπυριδαμόλη, τικλοπιδίνη

- Σταθεροποίηση της μεμβράνης: (α, β-αναστολείς, τοπικά αναισθητικά, αντιισταμινικά, τρικυκλικά αντικαταθλιπτικά, φουροσεμίδα)
- Ανταγωνιστές των γλυκοπρωτεϊνικών υποδοχέων ιντεγκρίνης GPIIb/IIIa.

Ο χρόνιος πόνος είναι συχνός στους ηλικιωμένους και αυξάνει με την πάροδο της ηλικίας. Πρόσφατη μελέτη απέδειξε ότι το 18% των ηλικιωμένων Αμερικανών άνω των 65 ετών λαμβάνει αναλγητικά πολλές φορές την εβδομάδα και το 63% αυτών λαμβάνει αναλγητικά για τουλάχιστον 6 μήνες.

Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη (ΜΣΑΦ) είναι αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση του χρόνιου πόνου, ο κίνδυνος όμως αιμορραγικών εκδηλώσεων κυρίως του πεπτικού (ελκωτικές βλάβες βλεννογόνων) από τη συχνή χρήση των ΜΣΑΦ ανέρχεται στο 1% στο γενικό πληθυσμό και αυξάνει στο 3-4% στους ασθενείς άνω των 60 ετών.

Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί η χρήση της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής για την δευτερογενή πρόληψη αθηροθρομβωτικού επεισοδίου και για την πρωτογενή πρόληψη ασθενών υψηλού κινδύνου και της αντιπηκτικής αγωγής σε ασθενείς με κολπική μαρμαρυγή. Υπολογίζεται ότι >2 εκατομμύρια ασθενών στη βόρεια Αμερική λαμβάνει αντιπηκτική αγωγή ενώ είναι περισσότεροι οι ασθενείς που λαμβάνουν αντιαιμοπεταλιακή αγωγή.²

Η Κολπική Μαρμαρυγή, ανήκει στις υπερκοιλιακές αρρυθμίες και είναι η πιο συχνή αρρυθμία της καρδιάς παγκοσμίως, η συχνότητά εμφανίζεται αυξάνεται όσο αυξάνεται και η ηλικία, ενώ, σε ασθενείς άνω των 80 ετών η συχνότητα εμφάνιση της υπερβαίνει το 10%.^{3,4}

Οι ενδείξεις χορήγησης αντιπηκτικής αγωγής με ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ (VKA) ή με τα νέα αντιπηκτικά γνωστά ως NOACs (Novel New Oral Anti Coagulants) που αποτελούν άμεσους εκλεκτικούς αναστολείς είτε του ενεργοποιημένου παράγοντα πήξης Χα (απιξαμπάνη, ριβαροξαμπάνη) είτε της θρομβίνης (νταμπιγκατράνη) για την πρόληψη θρομβωτικών επιπλοκών βασίζεται στα κριτήρια κινδύνου του CHA2DS2-VASc (C: Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, H: Υπέρταση, A: Ηλικία ≥75, D: Σακχαρώδης διαβήτης, S₂: Εγκεφαλικό ή Παροδικό Αγγειακό επεισόδιο ή θρομβοεμβολικό επεισόδιο, V: Αγγειακή νόσος, A: Ηλικία 65-74μ S₂: Φύλο).

Η χορήγηση όμως της per os αντιπηκτικής αγωγής με VKA για την πρόληψη θρομβωτικών επεισοδίων σε ασθενείς > των 65 αυξάνει τον κίνδυνο μείζονος αιμορραγίας, με ποσοστά 15%-20% ενδοεγκεφαλικής αιμορραγίας και θνητότητα 46%¹. Στους ηλικιωμένους ασθενείς με κάθαρση κρεατινίνης GRF <15ml/min 1.73m² η επίπτωση μείζονος αιμορραγίας είναι

δέκα φορές μεγαλύτερη από ότι στους ασθενείς με κάθαρση κρεατινίνης >90ml/min/1.73m². Ο κίνδυνος εμφάνισης μείζονος αιμορραγίας εκτιμάται βάσει των κριτηρίων HAS-BLEB score: Υπέρταση, νεφρική/ηπατική δυσλειτουργία, ιστορικό εγκεφαλικού επεισοδίου, ιστορικό αιμορραγίας, ή μέτρηση INR σε εύρος <60% του χρόνου, ηλικία >65 ετών και χρήση φαρμάκων/αλκοόλ).

Πρόσφατα δεδομένα για τα νέα από του στόματος αντιπηκτικά δείχνουν αυτά πλεονεκτούν σε σχέση με τους ανταγωνιστές της Βιτ Κ στην προφύλαξη θρομβοεμβολικών επεισοδίων σε ασθενείς άνω των 75 ετών με κολπική μαρμαρυγή Η επίπτωση αιμορραγίας με τα NOACs είναι ίση η μικρότερη από αυτήν των ABK. Σε μετα-ανάλυση ασφαλείας και αποτελεσματικότητας των NOACs το Apixaban παρουσίαζε τη μικρότερη επίπτωση μείζονος αιμορραγίας σε σχέση με τα Dabigatran/Rivaroxaban. Ο κίνδυνος αιμορραγίας από τη χρήση αντιπηκτικών αυξάνεται στους ηλικιωμένους ασθενείς που παρουσιάζουν παράλληλα έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας με μείωση της κάθαρσης των NOACs.³

Αντιμετώπιση αιμορραγίας από τα αντιπηκτικά

Σε σοβαρές αιμορραγικές εκδηλώσεις από τα αντιπηκτικά (VKA, NOACs) επιβάλλεται η χορήγηση αιμοστατικών παραγόντων όπως: το προθρομβινικό σύμπλεγμα PCC (B eriplex: II, VII, IX, X), το ενεργοποιημένο προθρομβινικό σύμπλεγμα PCC (Feiba: II, aVII, IX, X) και ο ανασυνδυασμένος παράγοντας VII (Novo seven: rFVIIa). Τα PCC προάγουν την παραγωγή θρομβίνης και η χορήγηση τους είναι πιο αποτελεσματική από τη χορήγηση του φρέσκου κατεψυγμένου πλάσματος (FFP) με άμεση διόρθωση του INR. Η βελτίωση των χρόνων πήξης (INR, χρόνος ροής, TT, aPTTEC/Rotem) δεν αντιστοιχεί πάντα στην υποχώρηση της κλινικής αιμορραγικής διάθεσης.⁵

Χρόνια Νεφρική Ανεπάρκεια

XNN είναι συχνή στους ηλικιωμένους και ο επιπολασμός της αυξάνεται με την ηλικία. Όπως είναι γνωστό η σπειραματική διήθηση, με την οποία υπολογίζεται ο βαθμός της νεφρικής λειτουργίας (e-GFR), μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας. Ανεξάρτητα από τα αίτια εμφάνισης XNN (διαβήτης, αρτηριακή υπέρταση, καρδιαγγειακή νόσος), η αύξηση του μέσου όρου ηλικίας των ασθενών αναμένεται να οδηγήσει σε αύξηση του αριθμού των ηλικιωμένων με XNA.

Η αιμορραγία είναι μία από τις κύριες επιπλοκές της ουραιμίας, αποδίδεται σε διαταραχές της

λειτουργικότητας των ΑΜΠ. Η κλινική έκφραση των αιμορραγικών εκδηλώσεων είναι ήπια, συνήθως εκδηλώνεται αυτόματα και χαρακτηρίζεται κυρίως από εκχυμώσεις, πορφύρα ή επίσταξη, ενώ η αιμορραγία από το γαστρεντερικό σύστημα. το περικάρδιο ή υποσκληρίδιο αιμάτωμα παρατηρείται σε μικρότερη συχνότητα.

Οι αιμορραγικές εκδηλώσεις της ΧΝΝ μειώθηκαν σημαντικά ή ελέγχονται καλύτερα μετά την ευρεία κλινική εφαρμογή της χρόνιας αιμοκάθαρσης (ΧΑ) και τη χορήγηση της ΕΡΟ (ερυθροποιητίνης).

Οι διαταραχές που συμβάλλουν στην πρόκληση αιμορραγίας στη ΧΝΝ περιλαμβάνουν: α) την αναιμία, β) τη βλάβη του τοιχώματος των αγγείων και γ) τις διαταραχές στη συσσώρευση και συγκόλληση των ΑΜΠ (πρωτοπαθής αιμόσταση).

Η λειτουργικότητά των αιμοπεταλίων παρουσιάζει σημαντικές διαταραχές στην ουραιμία που περιλαμβάνουν τη μείωση της συγκέντρωσης του ADP, της σεροτονίνης, δεισλειτουργία στο μηχανισμό απελευθέρωσης των α-κοκκίων και της β-θρομβοσφαιρίνης (β-TG), αύξηση του cAMP και μείωση της παραγωγής της A2 θρομβοξάνης TXA2 ενώ η διαταραχή προσκόλλησης των ΑΜΠ στο ενδοθήλιο ασθενών με ουραιμία οφείλεται στην αδυναμία σύνδεσης του vWF με τη γλυκοπρωτεΐνη GPIb.

Η αντιμετώπιση των οξέων αιμορραγικών εκδηλώσεων συνίσταται στην αιμοκάθαρση, στη μετάγγιση συμπυκνωμένων ερυθρών και στη χορήγηση της δεσμοπρεσσίνης (DDAVP): 0.3 mg/kg ενδοφλεβίως σε 50 mL saline σε >30min διάρκεια έγχυσης η ενδορρινικώς στην ίδια δόση.

Η χορήγηση των οιστρογόνων 0.6 mg/kg/ ενδοφλεβίως για 5 ημέρες είναι χρήσιμη για την θεραπεία της χρόνιας αιμορραγίας.^{1,5}

Η δεσμοπρεσσίνη (1-διαμινο-8-D-αργινίνη -β-αζοπρεσσίνη, DDAVP) είναι συνθετικό παράγωγο της αντιδιουρητικής ορμόνης, Χρησιμοποιείται, για τον έλεγχο αιμορραγικών εκδηλώσεων σε ασθενείς με νόσο του von Willebrand και ήπια αιμοφιλία Α. Η DDAVP δρα αυξάνοντας την απελευθέρωση των πολυμερών του vWF από τα σωμάτια Weibel-Palade των ενδοθηλιακών κυττάρων και από τα α κοκκία των ΑΜΠ. Μια τρίτη προπνηκτική δράση της DDAVP ασκείται στη μεμβράνη των ΑΜΠ, η οποία συνίσταται στην αύξηση της πρόσληψης της σεροτονίνης και στην έκκριση ATP από τα ενεργοποιημένα ΑΜΠ.

Είναι γεγονός ότι η χρήση της ερυθροποιητίνης στην αντιμετώπιση της αναιμίας της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας σηματοδότησε το τέλος μιας εποχής και την απαρχή μιας άλλης. Δεν είναι επομένως υπερβολή να θεωρήσω με την προ της ερυθροποιητίνης περίοδο

και την μετά την ερυθροποιητίνη ως δύο ξεχωριστές περιόδους με εντελώς διαφορετική προσέγγιση και αντιμετώπιση των προβλημάτων της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας, αφού είναι γνωστό ότι η ποιότητα ζωής των ασθενών, η ικανότητα για σωματική άσκηση, η υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας, η ανοσοποιητική τους κατάσταση και η αιμοστατική ικανότητα βελτιώθηκαν σημαντικά.⁵

Επίκτητη Αιμοροφιλία

Η επίκτητη αιμοροφιλία είναι μια σπάνια αιμορραγική διάθεση και εμφανίζεται ξαφνικά, σε άτομα με αρνητικό προηγούμενο αιμορραγικό ιστορικό.

Τα αιμορραγικά επεισόδια τις περισσότερες φορές είναι σοβαρά, απειλητικά για τη ζωή και δύσκολο να αντιμετωπιστούν.

Η συχνότητα της επίκτητης αιμοροφιλίας υπολογίζεται 1: 1000000. Το πρώτο περιστατικό αναφέρεται τη δεκαετία του 1940, και η πρώτη μεγαλύτερη αναφορά περιστατικών δημοσιεύεται το 1961.

Σύμφωνα με πρόσφατα στοιχεία η συχνότητα σε άτομα ηλικίας <65 ετών είναι 0,28 ανά εκατομμύριο/χρόνο, αλλά αυξάνει έως 5,97 σε άτομα ηλικίας 65-85 ετών και στο 16,6 σε άτομα ηλικίας άνω των 85 ετών. Επί του συνόλου, περισσότερο από το 80% των διαγνωσμένων ασθενών είναι ηλικίας >60 ετών^{7,8}.

Το ποσοστό θνησιμότητας είναι περίπου 21%, αν και μεταξύ των ηλικιωμένων ασθενών μπορεί να είναι ακόμη υψηλότερο.

Δεδομένα από EACH2 (European acquired hemophilia registry) δείχνουν ότι η διάγνωση της Επίκτητης Αιμοροφιλίας γίνεται μετά την έναρξη εμφάνισης της αιμορραγικής διάθεσης σε μέσο όρο, 3 (0-12) ημερών, αλλά στο 22,4% γίνεται μεταξύ 1 εβδομάδας και 1 μηνός και σε 9,8% μεταξύ 1 και 6 μηνών.⁸

Οι επίκτητες διαταραχές των παραγόντων πήξης οφείλονται σε ανάπτυξη αυτοαντισώματος εναντίον κάποιου παράγοντα πήξης (ανασταλτής).

Τα αυτοαντισώματα στρέφονται ειδικώς έναντι ενός παράγοντα και εξουδετερώνουν τη δραστηριότητά του, η εξουδετέρωση του παράγοντα γίνεται σταδιακά, οπότε παραμένει υπολειπόμενη ποσότητα του παράγοντα. Οι πιο συχνοί ανασταλτές είναι οι ανασταλτές του παράγοντα VIII οι οποίοι αναπτύσσονται συχνά παρουσία άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων (18% των περιπτώσεων) όπως ρευματοειδή αρθρίτιδα, συστηματικό ερυθηματώδη λύκο, στην περίοδο της λοχείας (7,3%), σε κακοήθειες (6,7%), μετά τη λήψη φαρμάκων η αντιβιοτικών όπως η πενικιλίνη (5,6%), σε δερματοπάθειες, ψωρίαση πέμφιγα (4,5%)

Στο 46,1% των περιπτώσεων ουδέν υποκείμενο

νόσημα ανευρίσκεται.

Η παρουσία αυτοαντισωμάτων κατά των παραγόντων πήξης (FVIII/FIX) εμφανίζεται σε ασθενείς με υποκείμενη αιματολογική κακοήθεια ή με την χορήγηση φαρμάκων (π.χ., αντιβιοτικά, φαινοτυΐνη, μεθυλντόπα, ιντερφερόνη, φλουδαραβίνη, και κλοπιδογρέλη).

Από τον εργαστηριακό έλεγχο προκύπτει παράταση aPTT με φυσιολογικές τιμές PT, αιμοπεταλίων, μη ύπαρξη ηπαρίνης, vWFκφ, LA (-) και θετική την δοκιμασία ανάμειξης (mixingtest). Η δοκιμασία ανάμειξης συνίσταται στην ανάμειξη ίσων ποσοτήτων του υπό εξέταση πλάσματος με φυσιολογικό πλάσμα (50:50) και επανάληψη της δοκιμασίας η οποία βρέθηκε παρατεταμένη. Σε περίπτωση άμεσης διόρθωσης για σωστό αποτέλεσμα απαραίτητη είναι η επώαση του δείγματος στους 37° C έως και τρεις ώρες.

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ανασταλτών του FVIII/FIX χρησιμοποιείται η μέθοδος Bethesda. Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται από το 1975 (Kasper et al) και συνίσταται στις διαδοχικές αραιώσεις φτωχού σε αιμοπετάλια πλάσματος του ασθενούς (με pool πλάσματος φυσιολογικών μαρτύρων (PNP), στην επώαση του τελικού δείγματος στους 37°C για δύο ώρες και στην μέτρηση της δραστηριότητας του παράγοντα χρησιμοποιώντας την one stage clot μέθοδο.

Μια μονάδα Bethesda (1 BU) ανασταλτή αντιστοιχεί στην εξουδετέρωση 0,5 IU FVIII/FIX σε 1ml πλάσματος.

Οι ανασταλτές διακρίνονται σε ανασταλτές υψηλής ανταπόκρισης «high responding» και έχουν τίτλο >5 Bethesda Unit (BU), σε ανασταλτές χαμηλής ανταπόκρισης «low responding» με τίτλο <5 BU και σε παροδικούς ανασταλτές «transient».

Η κλινική εικόνα της Επίκτητης Αιμορραγικής Διάθεσης χαρακτηρίζεται από εκτεταμένα μυϊκά ή υποδόρια αιματώματα, οπισθοπεριτοναϊκά αιματώματα, αιμορραγίες πεπτικού, αιματουρίες, μητρορραγίες καθώς μετεγχειρητικές αιμορραγίες). Αντίθετα με τις κληρονομικές αιμορραγικές διαθέσεις οι αιμορραγίες στις αρθρώσεις (αίμαρθρα) είναι σπάνιες. Η αιτία της διαφορετικής αιμορραγικής εικόνας μεταξύ κληρονομικής αιμορροφιλίας και επίκτητης είναι αδιευκρίνιστοι.

Ο μηχανισμός δράσης του αυτοαντισώματος εξαρτάται από το σημείο σύνδεσης του με το μόριο του παράγοντα FVIII. Οι ανασταλτές μπορούν να στραφούν κατά των αμινοξέων 1689-2332 σημεία στα οποία φυσιολογικός παράγοντας FVIII συνδέεται με τα φωσφολιπίδια, ή μπορούν να συνδεθούν στα σημεία σύνδεσης του FVIII με τη θρομβίνη, με τον FIXa ή με τον FX.

Η πιο σημαντική διαφορά μεταξύ των αυτοαντισωμάτων και των αλλοαντισωμάτων (σε ασθενείς με κληρονομική αιμορροφιλία που αναπτύσσουν ανα-

σταλτές έναντι του εγγεόμενου παράγοντα) είναι στα σημεία αδρανοποίησης του παράγοντα FVIII. Πολλοί από τους ανασταλτές στην κληρονομική αιμορροφιλία είναι type 1 (first-order kinetics), με γραμμική αδρανοποίηση του FVIII, αυτοί οι ανασταλτές καταστρέφουν όλο τον παράγοντα VIII και ανιχνεύονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο πλάσμα. Τα αυτοαντισώματα είναι του type 2 (second-order kinetics) και δεν προκαλούν αδρανοποίηση ολόκληρου του μορίου του FVIII. Έτσι λοιπόν μερικοί ασθενείς μπορεί να έχουν μεγάλο τίτλο αντισωμάτων (by Bethesda assay) που αντανάκλα στην ικανότητα να αδρανοποιήσει περίπου το 50% του παράγοντα FVIII με δραστηριότητα που κυμαίνεται από το 2% έως το 10%.

Η θεραπευτική προσέγγιση εξαρτάται από τον τίτλο του ανασταλτή και από τη σοβαρότητα των αιμορραγικών επεισοδίων. Στην περίπτωση που η τιμή του ανασταλτή είναι < 5 BU/ml και οι αιμορραγικές εκδηλώσεις δεν είναι σοβαρές μπορεί να χορηγηθεί 0,3 mg/Kg DDAVP (δεσμοπρεσσίνη) υποδορίως ή ενδοφλεβίως, ή να χορηγηθούν υψηλές δόσεις 20-50 IU/Kg ανασυνδυασμένου παράγοντα FVIII κάθε 6-8/h η συνεχής έγχυση 3-4 IU/Kg/h⁶.

Σε μεγάλα αιμορραγικά επεισόδια απειλητικά για τη ζωή του ασθενούς η άμεση θεραπευτική προσέγγιση συνίσταται στην αναχαίτιση της αιμορραγίας. Αυτό είναι δυνατό να επιτευχθεί με την ενδοφλέβια χορήγηση των λεγομένων «by passing» παραγόντων: Ενεργοποιημένο προθρομβινικό σύμπλεγμα aPCC (FEIBA) και ενεργοποιημένο-ανασυνδυασμένο παράγοντα FVII (Novoseven FVIIa).⁶

Σχετικά με το ενεργοποιημένο προθρομβινικό σύμπλεγμα aPCC (FEIBA): σε αναδρομική μελέτη 34 ασθενών με επίκτητη αιμορροφιλία φάνηκε ολική ανταπόκριση των αιμορραγικών επεισοδίων στο 86% των περιπτώσεων με δόσολογία 75 IU/Kg κάθε 8-12 ώρες με μέσο αριθμό 10 δόσεων. Η δόσολογία του aPCC δεν πρέπει να ξεπερνάει τις 200 IU/Kg, διότι υπάρχει κίνδυνος εμφάνισης θρομβοεμβολικών επεισοδίων. Μακροχρόνια χορήγηση του aPCC μπορεί να προκαλέσει αύξηση του ανασταλτή λόγω αναμνηστικής απάντησης γιατί το σκεύασμα περιέχει ίχνη παράγοντα FVIII.

Με τη χορήγηση του FVIIa παρατηρείται μερική ύφεση της αιμορραγίας στο 88% των περιπτώσεων μετά από 8 ώρες και ολική ύφεση της αιμορραγίας στο 92% των περιπτώσεων μετά από 24 ώρες. Η δόσολογία του FVIIa είναι 90-120 μg/kg κάθε τρεις ώρες μέχρι να σταματήσει η αιμορραγία. Το κόστος και οι αρτηριακές θρομβώσεις είναι τα μειονεκτήματα αυτής της θεραπείας.^{1,8,9}

Η συνύπαρξη στους ασθενείς με επίκτητη αιμορ-

ροφιλία, καρδιαγγειακών/θρομβοεμβολικών νόσων και/ή άλλων παραγόντων κινδύνου όπως ο διαβήτης, η αρτηριακή υπέρταση, η παχυσαρκία που απαιτούν αντιθρομβωτική θεραπεία δυσκολεύει την επιλογή θεραπευτικής αντιμετώπισης.

Η εμφάνιση σοβαρών αιμορραγικών εκδηλώσεων αντιμετωπίζεται σε πολλές περιπτώσεις με τη χορήγηση (APCCs, rFVIIa) πάρα την πιθανή εμφάνιση των θρομβοεμβολικών επεισοδίων, η οποία ενισχύεται περαιτέρω από τη μειωμένη κινητικότητα λόγω νοσηλείας ή με την ενεργοποίηση της πήξης που προκαλείται κατά τη διάρκεια τυχόν σηψαιμίας. Η συχνότητα εμφάνισης θρομβοεμβολικών επεισοδίων που συνδέονται με τη χορήγηση των by-passing προϊόντων είναι 4% στους ηλικιωμένους ασθενείς ενώ οι αιμορραγικές εκδηλώσεις είναι απειλητικές για τη ζωή των ασθενών σε ποσοστό 10%-20% των περιπτώσεων με υψηλότερα ποσοστά στους ηλικιωμένους ασθενείς.

Σε πρόσφατη ανασκόπηση αναφέρονται 30 θρομβοεμβολικά επεισόδια (<1%) σε 800.000 εγχύσεις rFVIIa σε ασθενείς με συγγενή ή επίκτητη αιμορροφιλία με ανασταλτές.^{1,9}

Θα πρέπει επομένως να λαμβάνεται προσεκτικά υπόψη ο κίνδυνος θρόμβωσης στους ασθενείς που χορηγείται θεραπεία για την αντιμετώπιση αιμορραγικών επιπλοκών όταν αποφασίζεται η δόσολογία και η διάρκεια της χορήγησης των παράγοντων. Σύμφωνα πάντως με τις πρόσφατες συστάσεις δεν θα πρέπει να θεωρείται αντένδειξη η θεραπεία με by-passing προϊόντα σε ασθενείς με θρομβοεμβολικό κίνδυνο.

Εκτός από την αντιμετώπιση των αιμορραγιών στη θεραπεία της επίκτητης αιμορροφιλίας απαραίτητη είναι η θεραπεία του υποκειμένου νοσήματος εάν υπάρχει και ταυτόχρονα η θεραπεία εξάλειψης του ανασταλτή. Η θεραπεία εκρίζωσης του ανασταλτή συνίσταται στην έναρξη χορήγησης ανοσοκαταστολής: πρεδνιζολόνη 1 mg/kg/day με ανταπόκριση το 30% των ασθενών. Η προσθήκη κυκλοφωσφαμίδης από 50 σε 100mg/day αυξάνει τα ποσοστά ανταπόκρισης στο 60-70%. Εκτός της κυκλοφωσφαμίδης μπορεί να χρησιμοποιηθούν και άλλα ανοσοκατασταλτικά φάρμακα peros: azathioprine, vincristine, mycophenolatemofetil, όπως και η 2-clorhodoxyadenosine. Η πλασμαφαίρεση δεν φαίνεται να έχει καλά αποτελέσματα.

Η έγχυση γ-σφαιρινών (IVIG) έχει επίσης χρησιμοποιηθεί με πολύ καλά αποτελέσματα. Μελέτη 16 ασθενών έδειξε μια ανταπόκριση της τάξεως του 50%, μετά τη χορήγηση γ-σφαιρίνης 2g/kg για 2 έως 5 ημέρες.

Η κυκλοσπορίνη έχει χρησιμοποιηθεί ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με κορτιζόνη σαν θεραπεία

διάσωσης. Η κυκλοσπορίνη είναι το φάρμακο εκλογής στους ασθενείς με Ερυθρηματώδη Λύκο.

Τα τελευταία χρόνια η χορήγηση Rituximab (anti-CD20 μονοκλωνικό αντίσωμα) στην επίκτητη αιμορροφιλία συνδυάζεται με πολύ καλή ανταπόκριση και για μεγάλο διάστημα. Η συνηθισμένη δόση είναι: 375mg/m² την εβδομάδα για 4-5 εβδομάδες. Το Rituximab θεωρείται το φάρμακο εκλογής στους ασθενείς που δεν απάντησαν στη θεραπεία ανοσοκαταστολής. Αρκετές ομάδες κλινικών προτείνουν το Rituximab ως θεραπεία πρώτης γραμμής σε συνδυασμό με κορτιζόνη στους ασθενείς με τίτλο αντισωμάτων >5 BU και <30 BU και σε συνδυασμό με κυκλοφωσφαμίδης στους ασθενείς με τίτλο αντισωμάτων >30BU.^{1,10}

Επίκτητη von Willebrand

Η επίκτητη νόσος von Willebrand (acquired von-Willebrand aVWS) είναι μια σπάνια αιμορραγική διάθεση που μιμείται την κληρονομική νόσο von Willebrand τόσο στην κλινική εικόνα όσο και στα εργαστηριακά ευρήματα. Χαρακτηρίζεται κλινικώς από αιμορραγίες δέρματος, βλεννογόνων ή μετεγχειρητικές αιμορραγίες και εργαστηριακώς από μειωμένη λειτουργία της πρωτογενούς αιμόστασης, παρατεταμένο χρόνο ροής, και μειωμένα επίπεδα του παράγοντα von Willebrand.

Το πρώτο περιστατικό επίκτητης νόσου von Willebrand περιγράφηκε το 1968 σε ασθενή με Συστηματικό Ερυθρηματώδη Λύκο (SLE) και μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί πάνω από 400 περιστατικά aVWS, βάσει των δεδομένων της International Registry της aVWDA. B. Federici, U. Budde, J.H.^{1,11}

Έχει διαγνωσθεί σε διάφορα νοσήματα όπως: Λεμφοϋπερπλαστικά Πολλαπλόν μυέλωμα Μακροσφαιριναιμία Waldestrom X.A.A. Τρχωτή Λευχαιμία non-Hodgkin Λέμφωμα) Μυελοϋπερπλαστικά (Ιδιοπαθής Θρομβοκυτταραιμία, ενώ στην Πολυερυθραιμία και στη Χρόνια Μυελογενή Λευχαιμία είναι λιγότερο συχνότερη η εμφάνιση της) κακοήθειες, ανοσολογικά καρδιαγγειακά και μετά την λήψη φαρμάκων ή διαφόρων ουσιών.

Ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός της επίκτητης von Willebrand είναι ετερογενής. Σε πολλές περιπτώσεις επίκτητης v. Willebrand η σύνθεση του παράγοντα von Willebrand από τα μεγακαρυοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι φυσιολογική αλλά παρατηρείται αυξημένη η απομάκρυνση του από την κυκλοφορία. Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται σε αυτές τις περιπτώσεις είναι οι ακόλουθοι:

- ανασταλτική δράση της λειτουργίας του von Willebrand Factor και/ή αυξημένη απομάκρυνση του συμπλέγματος FVIII-vWF από το πλάσμα

(παρουσία ειδικών αυτοαντισωμάτων κατά του παράγοντα vWF ή κατά του παράγοντα FVIII ή παρουσία μη ειδικών αντισωμάτων).

- αυξημένη προσρόφηση του παράγοντα vonWillebrand από καρκινικά κύτταρα ή από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια
- πρωτεόλυση του vWF κυτταρικής ή φαρμακευτικής αιτιολογίας
- μηχανική καταστροφή μεγάλων πολυμερών του vWF.

Αντισώματα κατά του VWF έχουν περιγραφεί σε διάφορα νοσήματα όπως: καλοήγη υπεργαμμασφαιριναιμία πολλαπλούν μυέλωμα και σε ανοσολογικές διαταραχές. Τα αντισώματα είναι IgGk (αλλά και IgM και σπανιότερα IgA) και κατευθύνονται κατά λειτουργικών ή μη λειτουργικών επιτρόπων του VWF δημιουργώντας ανοσοσυμπλέγματα, τα οποία γρήγορα φαγοκυτταρώνονται από το δικτυενδοθηλιακό σύστημα. Έχουν αναγνωρισθεί αντισώματα κατά των περιοχών σύνδεσης του Willebrand με το κολλαγόνο ή με τα αιμοπετάλια μέσω των γλυκοπρωτεϊνών GPIIb-IX-V και GPIIb-IIIa.

Αυξημένη προσρόφηση του VWF στην επιφάνεια καρκινικών κυττάρων μπορεί να συμβεί σε διάφορα νεοπλασματικά νοσήματα πολλαπλούν μυέλωμα μακροσφαιριναιμία Waldstrom's, non-Hodgkin's λέμφωμα, τριχωτή λευχαιμία, καρκίνος των επινεφριδίων. Μελέτες ανοσοφθορισμού όπως η κυτταρομετρία ροής επιβεβαιώνουν την προσρόφηση του παράγοντα στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων, τα οποία εκφράζουν έκτοπους GPIIb ή aIIb β2 υποδοχείς.

Στη στένωση της αορτικής βαλβίδας, η στροβιλώδης ροή του αίματος ενεργοποιώντας τα αιμοπετάλια αυξάνει την προσρόφηση των πολυμερών του VWF στην επιφάνεια τους. Πρωτεόλυση του VWF έχει παρατηρηθεί σε ασθενείς με ουραιμία και χορήγηση αντιβιοτικής αγωγής (ciprofloxacin).

Από την εργαστηριακή διερεύνηση της νόσου παρατηρείται παράταση του APTT, επίπεδα VWF: Ag συνήθως μειωμένα, χαμηλά επίπεδα VWF: Rcof/VWF: CB και φυσιολογικά τα επίπεδα του VWA_g: II (προπεπτιδίου VWF). Η μέτρηση του προπεπτιδίου VWF (VWF: AgII) φαίνεται να βοηθάει στη διαφορική διάγνωση κληρονομικής VWD και aVWS γιατί η λειτουργία του VWF και του VWF: AgII είναι διαφορετικές. ΟVWF:AgII συμμετέχει στον ενδοκυττάριο μετα-μεταγραφικό πολυμερισμό και στην αποθήκευση του VWF στα εκκριτικά κοκκία των αιμοπεταλίων. Επομένως φυσιολογικά ή αυξημένα επίπεδα του VWF: AgII με μειωμένα επίπεδα του VWF: Ag φανερώνουν την απομάκρυνση του παράγοντα από το πλάσμα ενώ τα χαμηλά επίπεδα του VWF: Ag και του VWF: AgII

είναι δείκτες μειωμένης σύνθεσης του παράγοντα VWF. Η ηλεκτροφόρηση των πολυμερών του VWF αποδεικνύει ότι πολλοί ασθενείς με aVWS κατατάσσονται στον τύπο 2A με ελαττωμένα του υψηλού μοριακού βάρους πολυμερή (HMWM) γιατί τα αυτοαντισώματα τείνουν κατά των υψηλών μοριακού βάρους πολυμερών του VWF ή λόγω προσρόφησης των HMWM στα καρκινικά κύτταρα ή στα ενεργοποιημένα ΑΜΠ¹².

Γ' αυτό στους ασθενείς με επίκτητη Von Willebrand ο λόγος VWF: Rcof/VWF: Ag (ή VWF: CB/VWF: Ag) είναι συνήθως χαμηλός.

Η θεραπευτική προσέγγιση της επίκτητης νόσου Von Willebrand βασίζεται σε δύο σκέλη, στη θεραπεία της υποκείμενης νόσου και στην αντιμετώπιση των αιμορραγικών εκδηλώσεων. Στις θεραπευτικές επιλογές των αιμορραγικών επεισοδίων περιλαμβάνεται η χρήση του DDAVP, το σύμπλοκο FVIII/vWF και η ενδοφλέβια χορήγηση υψηλών δόσεων ανοσοσφαιρινών (IVIg).¹² Στους ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στο DDAVP μπορεί να χορηγηθεί το σύμπλοκο FVIII/vWF, αλλά απαιτούνται υψηλές δόσεις για να εξουδετερωθεί η δράση των αυτοαντισωμάτων ή για να αντισταθμιστεί η αυξημένη προσρόφηση του συμπλέγματος VWF-FVIII από τα καρκινικά κύτταρα.

Η ανοσοπροσρόφηση και η πλασμαφαίρεση μπορεί να είναι αποτελεσματική ειδικά σε ασθενείς με υψηλό τίτλο αντισωμάτων, τα ανοσοκατασταλτικά και τα κορτικοστεροειδή, σύμφωνα με τα δεδομένα της International Registry φαίνεται να είναι αποτελεσματικά στο 35 και 19% των ασθενών με aVWS αντιστοίχως.^{13,14}

Η χορήγηση υψηλών δόσεων ανοσοσφαιρινών έχει πολύ καλά θεραπευτικά αποτελέσματα στην επίκτητη νόσο VonWillebrand ανοσολογικής αιτιολογίας. Στην aVWS με λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα ή με μονοκλωνική υπεργαμμασφαιριναιμία η χορήγηση γ-σφαιρίνης σε δόσολογία από 0,4-1g/kg για 2 έως 4 ημέρες διορθώνει τα επίπεδα του VWF: Ag στο πλάσμα το αργότερο σε 2-3 εβδομάδες. Η ανάλυση πολυμερών αποδεικνύει την εμφάνιση μακρών αλλά και ενδιάμεσων πολυμερών του VWF μέσα σε 24 ώρες από την ενδοφλέβια χορήγηση της γ-σφαιρίνης.

Το 33% των ασθενών με επίκτητη νόσο VonWillebrand ανταποκρίνονται στην γ-σφαιρίνη, ποσοστό που τείνει να αυξηθεί όταν η aVWS συνδυάζεται με λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα ή με ανοσολογικές διαταραχές ή με νεοπλασίες.^{13,14}

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Acquired bleeding disorders in the elderly Rebecca Kruse-Jarres Washington Center for Bleeding Disorders

- at Blood works Northwest and University of Washington, Seattle, WA Hematology 2015.
2. Edholm K, Ragle N, Rondina MT. Antithrombotic management of atrial fibrillation in the elderly. *Med Clin North Am.* 2015;99:417-430.
 3. P, Chatterjee S, Chaudhari S, Lip GY. New oral anticoagulants in elderly adults: evidence from a meta-analysis of randomized trials. *J Am Geriatr Soc.* 2014;62:857-864.
 4. American Heart Association/American Stroke Association. Older Americans & cardiovascular disease. Available at: http://www.heart.org/idc/groups/heart-public/@wcm/@sop/@smd/documents/downloadable/ucm_319574.pdf.
 5. DDAVP in the treatment of bleeding disorders. Revised edition. Pier Mannuccio Mannucci. Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia and Thrombosis November 2012; No. 11
 6. International recommendations on the diagnosis and treatment of patient with acquired hemophilia A.
 7. Collins PW, Hirsch S, Baglin TP, et al. Acquired hemophilia A in the United Kingdom: a 2-year national surveillance study by the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation. *Blood.* 2007;109:1870-1877.
 8. Knoebl P, Marco P, Baudo F, et al. Demographic and clinical data in acquired hemophilia A: results from the European Acquired Haemophilia Registry (EACH2). *J Thromb Haemost.* 2012;10:622-631.
 9. Baudo F, Collins P, Huth-Kühne A, et al. Management of bleeding in acquired hemophilia A: results from the European Acquired Haemophilia EACH2 Registry. *Blood.* 2012;120:39-46.
 10. Collins P, Baudo F, Knoebl P, et al. Immunosuppression for acquired hemophilia A: results from the European Acquired Haemophilia Registry (EACH2). *Blood.* 2012;120:47-55.
 11. Tiede A. Diagnosis and treatment of acquired von Willebrand syndrome. *Thromb Res.* 2012;130(Suppl 2):S2-S6.
 12. Federici AB, Budde U, Castaman G, Rand JH, Tiede A. Current diagnostic and therapeutic approaches to patients with acquired vonWillebrand syndrome: a 2013 update. *SeminThrombHemost.* 2013;39:191-201.
 13. Federici AB. Use of intravenous immunoglobulin in patients with acquired von Willebrand syndrome. *Hum Immunol.* 2005;66:422-430.
 14. Kanakry JA, Gladstone DE. Maintaining hemostasis in acquired vonWillebrand syndrome: a review of intravenous immunoglobulin and the importance of rituximab dose scheduling. *Transfusion.* 2013;53:1730.

Διαταραχές αιμόστασης στον ηπατοπαθή ασθενή – Νεώτερα δεδομένα

ΕΥΦΡΟΣΥΝΗ ΝΟΜΙΚΟΥ

Αιματολόγος, Διευθύντρια, Ν.Υ. Αιμοδοσίας, Γ.Ν. “Ιπποκράτειο”, Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ηπατοπαθής ασθενής και δη ο κίρρωτικός, εμφανίζει διαταραχές στην αιμόσταση οι οποίες επί σειρά ετών χαρακτηρίζονταν ως η επιτομή της επίκτητης αιμορραγικής διάθεσης. Το ήπαρ είναι ο τόπος της σύνθεσης των περισσότερων παραγόντων της πήξης και καθώς η ηπατική λειτουργία και η συνθετική ικανότητα διαταράσσεται, παρατείνονται οι χρόνοι της πήξης. Αυτά τα εργαστηριακά ευρήματα ρουτίνας - παρατεταμένος χρόνος προθρομβίνης (PT) και μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT) - εύλογα δηλώνουν στον καθένα αιμορραγική διάθεση.

Ωστόσο νεώτερα δεδομένα κλινικά αλλά και εργαστηριακά, καταδεικνύουν ότι η πραγματικότητα απέχει κατά πολύ και είναι σαφώς πιο πολύπλοκη. Για την ακρίβεια είναι τόσο πολυπαραγοντική και σύνθετη όσο και η ίδια η διαδικασία της πήξης. Πολλά στοιχεία της έως τώρα γνώσης έχουν αναθεωρηθεί και σήμερα έχει πλέον άρδην αλλάξει η κλασική αντίληψη για την αιμόσταση του ηπατοπαθούς ασθενή.

Η διαταραχή της αιμόστασης στον κίρρωτικό χαρακτηρίζεται ως μοναδική και ιδιαίτερη, καθώς **εξισορροπεί μεταξύ αιμορραγίας και θρόμβωσης** με ένα εξαιρετικά εύθραυστο μηχανισμό που κάτω από ειδικές συνθήκες, μπορεί να κλίνει προς την μία ή την άλλη πλευρά.

Παθοφυσιολογία της αιμόστασης στη χρόνια ηπατική νόσο

Για να γίνει κατανοητή η φύση των διαταραχών, θα πρέπει να γίνει σαφές ότι το ήπαρ είναι τόπος παραγωγής και κάθαρσης τόσο **προπηκτικών** όσο και **αντιπηκτικών παραγόντων** του καταρράκτη της

πήξης αλλά και του μηχανισμού της **ινωδόλυσης**.¹⁻³

Συγκεκριμένα, στο ήπαρ παράγονται οι περισσότεροι παράγοντες της **πήξης** – I, FII, FV, FVII, FIX, FX, FXII, FXIII- οι οποίοι στην ηπατική ανεπάρκεια, με εξαίρεση τον FVIII, είναι μειωμένοι. Συγχρόνως όμως εκπίπτει και η σύνθεση των φυσικών ανασταλτών της πήξης όπως της πρωτεΐνης S, πρωτεΐνης C και αντιθρομβίνης.^{1,3,4}

Σχετικά με **την ινωδόλυση**, οι περισσότερες πρωτεΐνες - ενεργοποιητές και ανασταλτές που εμπλέκονται στον μηχανισμό, ομοίως συντίθενται στο ήπαρ.^{1,2,3,5} Τα επίπεδα του πλασμινογόνου, της α₂-αντιπλάσμινης και του TAFI (Thrombin –activatable fibrinolysis inhibitor) μειώνονται καθώς προοδεύει η ηπατική ανεπάρκεια.^{4,5} Ο ενεργοποιητής της ινωδόλυσης t-PA αλλά και ο ανασταλτής αυτού PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1) συντίθενται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και αυξάνονται στον ηπατοπαθή ασθενή καθώς το ήπαρ είναι ο τόπος κάθαρσης αυτών από την κυκλοφορία¹⁻⁵. Παρατηρείται λοιπόν όπως ακριβώς και με τον μηχανισμό της πήξης, συγχρόνως ενεργοποίηση της ινωδόλυσης αλλά και καταστολή αυτής που προφανώς συντηρεί μια λεπτή ισορροπία η οποία όμως εύκολα μπορεί να καταρχθεί.

Η θρομβοπενία αποτελεί τυπικό εύρημα στην χρόνια ηπατική νόσο και σε συνδυασμό με την επί σειρά ετών αναφερόμενη “θρομβοπάθεια” της κίρρωσης δικαιολογούσε ένα σημαντικό ποσοστό αιμορραγικών εκδηλώσεων. Ωστόσο σήμερα και ο ρόλος της θρομβοπάθειας αμφισβητείται. Αντιρροπείται ως φαίνεται από τα **αυξημένα** επίπεδα του παράγοντα **von Willebrand (VWF)** αλλά και της μειωμένης παραγωγής της μεταλλοπρωτεάσης ADAMTS- 13 που αποδομεί τον παράγοντα. Έτσι προάγεται η προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο υπενδοθήλιο

στον τόπο της αγγειακής βλάβης και τα ελαττωμένα σε αριθμό αιμοπετάλια είναι ικανά να διατηρήσουν την λειτουργικότητά τους.^{1,2,4} Ο ρόλος του **ενδοθηλίου** που ελάχιστα έχει διερευνηθεί στην κίρρωση πιθανώς να είναι εξίσου σημαντικός στην διατήρηση της πρωτογενούς αιμόστασης. Η στάση στα κολποειδή ευνοεί την απώλεια "προστατευτικών γλυκοκαλύκων" (γλυκοζαμινογλυκανών-ηπαρινοειδών) από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, με αποτέλεσμα να ευνοείται η προσκόλληση και η συσώρευση των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο. Τα αυξημένα επίπεδα γλυκοζαμινογλυκανών στο πλάσμα ασθενών με ηπατική νόσο πιθανώς αντανάκλα αυτή την διάσπαση των ενδοθηλιακών γλυκοκαλύκων.⁴ Από την άλλη πλευρά, υπάρχει και ο αντίλογος καθώς η αυξημένη παραγωγή από τα ενδοθηλιακά κύτταρα NO και προστακυκλίνης -των δύο σημαντικών αναστολέων της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων- πιθανώς να σχετίζεται με την αναφερόμενη θρομβοπάθεια της κίρρωσης.³

Συνοψίζοντας, όσους λόγους μπορεί να έχει ένας ηπατοπαθής ασθενής που να προδιαθέτουν σε αιμορραγία, άλλους τόσους μπορεί να αντιπαραθέσει κανείς που να δηλώνουν υπερπηκτικότητα και θρομβωτική διάθεση (Πίνακας 1).

Η πλειονότητα των ηπατοπαθών διατηρεί μία «αιμοστατική «ισορροπία η οποία όμως είναι επισφαλής, αβέβαιη και δυνητικά ασταθής συγκρινόμενη με τον αιμοστατικό μηχανισμό του υγιούς. Αυτό εξηγεί την εκδήλωση αιμορραγικών επιπλοκών ή θρομβώσεων ή και την συνύπαρξή τους, σε ασθενείς με κίρρωση.⁴

Εργαστηριακές δοκιμασίες και προγνωστική αξία

Οι περισσότερες εργαστηριακές δοκιμασίες δεν μπορούν να διακρίνουν τον κίνδυνο αιμορραγίας ή θρόμβωσης καθώς η **in vitro διαταραχή δεν συμβαδίζει** με την πολύπλοκη **in vivo** αιμόσταση. Συγκεκριμένα:

Χρόνος προθρομβίνης (PT) – χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT)

Οι παρατάσεις αυτών των δοκιμασιών ρουτίνας

συμβαδίζουν μόνο με την βαρύτητα της ηπατικής νόσου καθώς ουσιαστικά δηλώνουν την μείωση της σύνθεσης παραγόντων πήξης χωρίς να μπορούν να ανιχνεύσουν την παράλληλη μείωση των ανασταλτών.^{3,6,7}

Ειδικότερα, ο χρόνος προθρομβίνης και **το INR** αποτελούν ευαίσθητη μέθοδο για τον έλεγχο της αντιπηκτικής δράσης των αντιβιταμινών K και **όχι για την ηπατική νόσο** όπου εμφανίζουν διακυμάνσεις και δεν έχουν αξιοπιστία.^{3,6-8} Θεωρούνται άνευ προγνωστικής αξίας για εκδήλωση αυτόματης, περιεγχειρητικής ή μετεγχειρητικής αιμορραγίας στον κίρρωτικό ασθενή και επιπροσθέτως η μείωση του INR με την χρήση rFVIIa δεν συμβαδίζει με ελάττωση αιμορραγικών εκδηλώσεων (κίρρωση, χειρουργείο κ.α.).⁶

Αιμοπετάλια: αριθμός και λειτουργικότητα

Τιμή αιμοπεταλίων **>50x10⁹ /L** θεωρείται ότι είναι ικανή να διασφαλίσει πρωτογενή αιμόσταση, καθώς παρέχουν υπόστρωμα για την επαρκή παραγωγή θρομβίνης.^{6,9}

Ο χρόνος ροής είναι παρατεταμένος στον κίρρωτικό ασθενή. Ωστόσο ομοίως **δεν έχει καμία προγνωστική αξία** ως προς την εμφάνιση αιμορραγίας -καθώς in vivo η λειτουργικότητα φαίνεται να διατηρείται με την αύξηση του VWF - και δεν υπάρχει σύσταση να πραγματοποιείται.^{6,7,10} Το PFA-100 (Platelet function analyser) έχει προταθεί ως εναλλακτική μέθοδος ελέγχου της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων στην κίρρωση με ασαφή ομοίως αποτελέσματα για κλινική εφαρμογή.^{3,7}

Ινωδόλυση

Πολλές δοκιμασίες που αξιολογούν τον μηχανισμό της ινωδόλυσης- όπως χρόνος λύσης θρόμβου, χρόνος ευσφαιρινών, D-Dimer, t-PA, προϊόντα αποδομής ινωδογόνου- είναι συχνά παθολογικές στην ηπατική νόσο με την πλειονότητα τους να έχουν μικρή ειδικότητα και πολλές διακυμάνσεις. Με εξαίρεση ίσως το θρομβοελαστογράφημα **δεν υπάρχει δοκιμασία που να αξιολογεί σφαιρικά τον μηχανισμό** ή να

Πίνακας 1. Αιμόσταση στον ηπατοπαθή ασθενή

Αιμόσταση	Αιμορραγική διάθεση	Θρομβωτική διάθεση
Πρωτογενής: αιμοπετάλιο-αγγείο	Θρομβοπενία	vWF ↑, ADAMTS 13 ↓
Πήξη-παραγωγή θρομβίνης	NO- Προστακυκλίνη ↑	FVIII ↑, Ανασταλτές πήξης ↓
Ινωδόλυση	Ινωδογόνο, παράγοντες πήξης ↓	πλασμινογόνο ↓
	t-PA ↑ α2αντιπλασμίνη ↓	PAI ↑
	TAFI ↓	

μπορεί να προβλέψει την *in vivo* προδιάθεση για υπερ- ή υπο-ινωδύλωση.^{5,6,9,10}

Επίπεδα παραγόντων της πήξης και ανασταλτών της πήξης

Η μείωση των πλείστων παραγόντων της πήξης, η αύξηση του FVIII και η παράλληλη έκπτωση των ανασταλτών πρωτεΐνης S, πρωτεΐνης C και αντιθρομβίνης, διατηρούν *en t lei* ικανοποιητική παραγωγή θρομβίνης στον κίρρωτικό ασθενή. **Δεν συνιστάται** η αξιολόγηση των επιπέδων **παραγόντων ή ανασταλτών** και η συσχέτιση τους με την πιθανότητα αιμορραγίας ή θρόμβωσης αντίστοιχα.^{6,9,10}

Η παραγωγή θρομβίνης

Η παραγωγή θρομβίνης TGA (thrombin generation assay) στον ηπατοπαθή - εξαιτίας της **αντίστασης στη θρομβομοδουλίνη** (ενδοθηλιακός υποδοχέας της θρομβίνης μέσω του οποίου ενεργοποιείται η οδός της πρωτεΐνης C) – είναι **ικανοποιητική ή/και αυξημένη** σε σύγκριση με τον υγιή.^{1,3,6,7} Άλλη μία αντίφαση που όμως ενισχύει την άποψη ότι δεν πρέπει να αξιολογούνται οι παρατάσεις των χρόνων της πήξης ως ένδειξη κινδύνου αιμορραγίας. Θεωρείται σήμερα μία πολλά υποσχόμενη εργαστηριακή μέθοδος που ίσως μπορέσει να διακρίνει ομάδες ηπατοπαθών με υψηλό κίνδυνο θρόμβωσης.^{6,11} Ωστόσο είναι μία σύνθετη εξέταση που δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί σε μη εξειδικευμένα εργαστήρια.⁷

Το θρομβοελαστογράφημα

Το θρομβοελαστογράφημα θεωρείται η καλύτερη μέθοδος **σφαιρικής εκτίμησης της αιμόστασης** και της συμβολής σε αυτή τόσο των κυτταρικών όσο και των πλασματικών στοιχείων του αίματος.^{6,7,9,12} Καταγράφει την δυναμική του θρόμβου, τον σχηματισμό, την ισχύ, την σταθερότητά και την λύση του, αλλά δεν μπορεί να αξιολογήσει την συμμετοχή του αγγειακού τόνου και του ενδοθηλίου.^{9,12} Θεωρείται επίσης η πλέον κατάλληλη μέθοδος για την διάγνωση της υπερ-ινωδύλωσης στην κίρρωση.^{7,12}

Το θρομβοελαστογράφημα επιβεβαιώνει ότι οι περισσότεροι ηπατοπαθείς ασθενείς όντως «εξισορροπούν» αιμοστατικά και διακρίνει ομάδες κίρρωτικών χολοστατικού τύπου (πρωτοπαθής χολική κίρρωση και σκληρυντική χολαγγειίτιδα) που εμφανίζουν υπερπηκτικότητα.¹² Αν και θεωρείται σαφώς ανώτερο για την αξιολόγηση του κινδύνου αιμορραγίας στον ηπατοπαθή σε σύγκριση με τις συνήθεις εργαστηριακές δοκιμασίες ιδιαίτερα σε μεταμοσχεύσεις ήπατος,

πρέπει να τονιστεί ότι απαιτούνται πολλές κλινικές μελέτες ώστε να μπορεί να δίδονται βάσει αυτού με ασφάλεια οδηγίες μεταγγίσεων.^{6,12}

Κλινικές εκδηλώσεις

Αιμορραγία

Οι αιμορραγικές εκδηλώσεις είναι συχνές στην ηπατική νόσο αλλά η συσχέτιση τους με εργαστηριακές παραμέτρους και δοκιμασίες έχει πλέον αμφισβητηθεί.^{3,4,13}

Η συνηθέστερη αιμορραγία είναι η **κισσορραγία** που αποδίδεται κυρίως στην **πυλαία υπέρταση**^{4,10,13,14} ενώ λίγες αναφορές συσχετίζουν τον κίνδυνο της υποτροπής με την χαμηλή τιμή των αιμοπεταλίων (η οποία έμμεσα υποδηλώνει και την βαρύτητα της πυλαίας υπέρτασης).^{4,14,15} Ακολουθούν άλλες αιμορραγίες από το ΓΕΣ που οφείλονται σε πυλαία γαστροπάθεια, πεπτικό έλκος ή σπανιότερα αιμορραγίες από το κόλον.^{4,13,15}

Συχνές επίσης είναι οι **αιμορραγίες δέρματος-βλεννογόνων** με τυπικές εκδηλώσεις τα υποδόρια αιματώματα, την ουλορραγία, επίσταση, τη μηνονητρορραγία. Παρατεταμένη αιμορραγία μετά εξαγωγή οδόντων, χειρουργείο ή τραύμα ή από τα σημεία των φλεβοκεντήσεων επίσης συσχετίζονται με προχωρημένη ηπατική νόσο. Αντίθετα, αιμορραγίες που παρατηρούνται σε έκπτωση παραγόντων πήξης όπως ενδομυϊκά αιματώματα, αίμαρθρα ή ενδοεγκεφαλική αιμορραγία (με εξαίρεση τον αλκοολισμό)^{4,5}, δεν εμφανίζονται στον κίρρωτικό σε μεγαλύτερη συχνότητα απ' ό τι στον γενικό πληθυσμό.^{4,7,13}

Αξιολογώντας τον ασθενή με χρόνια ηπατική νόσο, θα πρέπει κανείς να είναι σε θέση να διακρίνει για ποιους λόγους η εύθραυστη αιμοστατική ισορροπία του εκτρέπεται προς την αιμορραγία. Οι συνηθέστεροι είναι οι ακόλουθοι:

1. **Αιμοδυναμική διαταραχή** –αυξημένη πίεση στην πυλαία φλέβα (πυλαία υπέρταση) – είναι η πρώτη αιτία της κισσορραγίας.^{1,7,9}
2. **Βακτηριδιακή λοίμωξη** η οποία οδηγεί αφενός στην παραγωγή ενδογενών "ηπαρινοειδών ουσιών" (heparin-like substances), αφετέρου σε **δυσλειτουργία του ενδοθηλίου** που προάγει τη **ΔΕΠ ή την υπερινωδύλωση**.^{2,4,7,9,15} Περίπου τα 2/3 των κίρρωτικών ασθενών με αιμορραγία από το ΓΕΣ έχουν λοίμωξη,⁴ ενώ η χορήγηση αντιβιοτικών φαίνεται να μειώνει τον κίνδυνο αιμορραγίας.^{2,4,7}
3. **Νεφρική ανεπάρκεια** συχνή σε προχωρημένη ηπατική νόσο, καθώς η ουραιμία επιδεινώνει κατά πολύ την αναιμία και την λειτουργικότητα

των αιμοπεταλίων, κυρίως δε την δυνατότητα προσκόλλησης τους στο υπενδοθήλιο.^{1,4,7,16}

4. **Υπερ-ινωδύλωση.** Ο ρόλος της στην εμφάνιση αιμορραγίας είναι ασαφής και μη τεκμηριωμένος. Μπορεί να είναι πρωτοπαθής -που θεωρείται σπάνια- ή επί εδάφους ΔΕΠ και η εργαστηριακή της τεκμηρίωση δύσκολη. Πυροδοτείται συχνά από **λοιμώξεις** Πιθανολογείται σε περιπτώσεις διάχυτης αιμορραγίας από τους βλεννογόνους (**oozing**), παρατεταμένης και δυσεπίσχετης αιμορραγίας μετά από φλεβοκέντηση, τραύμα ή εξαγωγή οδόντων (όψιμη), ή αιμορραγίας από την ουροδόχο κύστη. Φαίνεται πως ασθενείς με ασκικτική συλλογή και προχωρημένη κίρρωση έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να την εμφανίσουν καθώς στο ασκικτικό υγρό παρατηρείται αυξημένη ινωδολυτική δραστηριότητα.^{3,5,17}

Θρόμβωση

Η άποψη που επί μακρόν επικρατούσε- ότι οι κίρρωτικοί ασθενείς διαθέτουν μία "φυσική αντιπηκτική ικανότητα"- θεωρείται πλέον μύθος. Όχι μόνο δεν έχουν αυτή την προστασία, αλλά και παρουσιάζουν συχνά θρομβωτικές επιπλοκές. Η **υπερ-πηκτικότητα στην κίρρωση** αποδίδεται στην έκπτωση των φυσικών ανασταλτών, την αύξηση του VWF και του FVIII αλλά και στην δυσλειτουργία του ενδοθηλίου εξαιτίας της στάσης στα πυλαία κολποειδή. Η τελευταία υποδηλώνει και διαταραχή των ενδοθηλικών υποδοχέων και συγκεκριμένα της θρομβομοδουλίνης (TM) που οδηγούν στην αυξημένη παραγωγή θρομβίνης. Η αντίσταση στην TM μαζί με τους άλλους προαναφερθέντες μηχανισμούς, προοδεύουν παράλληλα με την εξέλιξη της ηπατικής νόσου, με τη θρομβοφιλική διάθεση ομοίως να αυξάνει.

Οι θρομβώσεις είναι δυνατόν να είναι:

- α)** Σιωπηλές **μικροθρομβώσεις** στο ηπατικό παρέγχυμα και να σχετίζονται με την **εξέλιξη της ίνωσης**.^{1,18-20}
- β)** Έκδηλες, σε **μεγάλα αγγεία** όπως φλεβική ή αρτηριακή θρόμβωση, πνευμονική εμβολή ή θρόμβωση σπλαγχνικών αγγείων.^{1,19,20}

Σήμερα θεωρείται ότι η **υπερ-πηκτικότητα** της χρόνιας ηπατικής νόσου αποτελεί μία από τις **κύριες αιτίες** που συμβάλλουν στην εξέλιξη της ίνωσης και την **παθογένεια της κίρρωσης**. Δύο υποθέσεις θεωρούνται ως οι επικρατέστεροι μηχανισμοί: Κατά πρώτον, η θρομβίνη μέσω των PAR (Protease activated receptors) ενεργοποιεί κατευθείαν τα ηπατικά αστεροειδή κύτταρα τα οποία προάγουν με την παραγωγή κολλαγόνου, την ινογένεση. Δεύτερον, πολλαπλές ενδοηπατικές μικροθρομβώσεις οδηγούν

σε ιστική υποξία, νέκρωση και εξάλειψη του ηπατικού παρεγχύματος και τελικά σε αντικατάστασή του από ινώδη ιστό.¹⁸⁻²⁰

Η θεωρία ενισχύεται από κλινικές μελέτες στις οποίες φαίνεται ότι ηπατοπαθείς με συγγενή ή άλλα αίτια θρομβοφιλίας, ταχύτερα προοδεύουν προς την κίρρωση. Η ετεροζυγωτία της μετάλλαξης FVLeiden σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη από ιό της ηπατίτιδας C σχετίζεται με 3πλάσιο κίνδυνο ταχείας εξέλιξης της ίνωσης σε κίρρωση,^{18,20} ενώ η έκπτωση της πρωτεΐνης C, η αύξηση του FVIII και η υπερμοκουστειναιμία ομοίως σχετίζονται με προχωρημένη ίνωση σε HCV ασθενείς.²¹ Αντίθετα, η φυσική ιστορία της ηπατικής νόσου σε HCV (+), HIV (-) ασθενείς με αιμορροφιλία δείχνει βραδεία εξέλιξη της ίνωσης και χαμηλή θνητότητα (3%) από ηπατικές επιπλοκές.¹⁸

Η συχνότητα θρομβοεμβολικής νόσου (φλεβοθρόμβωσης και πνευμονικής εμβολής) στην κίρρωση κυμαίνεται από 1-8,1%.¹³ Ο κίνδυνος εμφάνισης **φλεβοθρόμβωσης** σε χρονίους ηπατοπαθείς και κίρρωτικούς ασθενείς σε σύγκριση με άλλους νοσηλευόμενους ή με τον γενικό πληθυσμό υπολογίζεται σε αρκετές μελέτες τουλάχιστον **2πλάσιος**.^{5,19,22} Εξακολουθεί όμως να είναι μικρότερος σε σύγκριση με ομάδες ασθενών υψηλού κινδύνου για θρόμβωση - όπως καρκινοπαθείς ή ασθενείς με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια.²³ Απαιτούνται μεγάλες προοπτικές μελέτες σε μη νοσηλευόμενους ασθενείς με κίρρωση για ασφαλή συμπεράσματα.¹³

Λίγα στοιχεία είναι διαθέσιμα σχετικά με το ποιοι παράγοντες μπορούν να προβλέψουν την εμφάνιση φλεβοθρόμβωσης στον ηπατοπαθή. Η **χαμηλή τιμή λευκωματίνης** θεωρείται ως **ανεξάρτητος δείκτης κινδύνου**, ενώ οι τιμές INR και το score MELD ή Child-Pugh απέτυχαν να συσχετιστούν με αυξημένο κίνδυνο.^{20,23} Ωστόσο η χαμηλή τιμή λευκωματίνης έμμεσα δηλώνει ότι καθώς προοδεύει η ηπατική νόσος προς κίρρωση ο κίνδυνος για θρόμβωση αυξάνει, το οποίο επιβεβαιώνεται από αρκετές κλινικές μελέτες. Επίσης η **ηλικία <45 ετών** θεωρείται παράγοντας αυξημένου κινδύνου και κατά πολλούς αίτιο θρομβοπροφύλαξης σε νοσηλευόμενους κίρρωτικούς.²³

Η κλασική αντίληψη ότι η επίπτωση της **αρτηριακής θρόμβωσης** (AEE, στεφανιαία νόσος) είναι χαμηλότερη στους κίρρωτικούς ασθενείς ιδιαίτερα στους αλκοολικούς σήμερα επίσης αμφισβητείται.^{1,4}

Χαρακτηριστική περίπτωση συνύπαρξης ηπατικής νόσου και καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι η **μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (ΜΑΛΝΗ)**. Αυτή ουσιαστικά συνιστά την ηπατική εκδήλωση του μεταβολικού συνδρόμου που χαρακτηρίζεται από αντίσταση στην ινσουλίνη, κεντρική παχυσαρκία, υπέρταση και δυσλιπιδαιμία. Το σύνδρομο συσχετίζεται

με την αθηροσκλήρυνση και την **δυσλειτουργία του ενδοθηλίου**. Αυξημένη έκλυση ιστικού παράγοντα (TF), **PAI-1**, και θρομβοξάνης, οδηγούν σε ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης, αναστολή της ινωδόλυσης και αυξημένη συσσώρευση των αιμοπεταλίων αντίστοιχα.^{4,20} Η **αρτηριακή θρόμβωση** και δη τα καρδιαγγειακά νοσήματα συνιστούν την **πρώτη αιτία θανάτου** αυτής της ομάδας ασθενών.⁴

Τέλος, είναι γνωστή η συσχέτιση της κίρρωσης με την θρόμβωση σπλαγγχνικών αγγείων και δη της **πυλαίας φλέβας** που θεωρείται και η **συνηθέστερη θρομβωτική επιπλοκή**. Η συχνότητα της αυξάνει καθώς προοδεύει η ηπατική νόσος- από 1% σε ασθενείς με αντιρροπούμενη νόσο έως και 25% σε ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση και υποψηφίους για μεταμόσχευση ήπατος.^{1,5,13} Η παθογένεια είναι πολυπαραγοντική καθώς πέραν της χαμηλής ροής στα πυλαία κολποειδή και της υπερ-πηκτικότητας της κίρρωσης, σε πολύ υψηλό ποσοστό (>35%) ανιχνεύονται και άλλα συγγενή ή επίκτητα αίτια θρομβοφιλίας-όπως FV Leiden, αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα ή μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα.^{5,13,20}

Θεραπευτικές παρεμβάσεις – Διαχείριση επιπλοκών

Αιμορραγία

Παρά τις συνεχείς νέες πληροφορίες σχετικά με τις διαταραχές στην αιμόσταση, εντυπωσιάζει το γεγονός ότι δεν υπάρχουν πολλά κλινικά δεδομένα για τον τον τρόπο διαχείρισης της αιμορραγίας στον ηπατοπαθή. Η αντιμετώπιση του ασθενούς που αιμορραγεί ή η προφύλαξη προ επεμβατικών χειρισμών ποικίλει καθώς **δεν υπάρχουν κατευθυντήριες οδηγίες**, αλλά διάφορες τακτικές ανά κέντρο.^{4,9}

Η πολιτική του περιορισμού των μεταγγίσεων κατά την μεταμόσχευση ήπατος και η επιτυχής έκβαση, έφερε στο προσκήνιο την αναγκαιότητα της **αναθεώρησης** της μέχρι τώρα τακτικής των **προφυλακτικών μεταγγίσεων** προ επεμβατικών μεθόδων. Έτσι, από πολλά κέντρα έχει υιοθετηθεί η τακτική της **αναμονής (wait -and -see)** κατά την οποία παρέμβαση γίνεται μόνο επί αιμορραγίας. Αυτή η στρατηγική υποστηρίζεται από το γεγονός ότι πράγματι η αποτελεσματικότητα της προφύλαξης δεν έχει ποτέ τεκμηριωθεί. Επικρατεί αβεβαιότητα με το ποιος πρέπει να είναι ο εργαστηριακός στόχος της διόρθωσης των χρόνων της πήξης, οι παρατάσεις των οποίων έτσι και αλλιώς δεν προδικάζουν αιμορραγία.^{3,4,9,24}

Τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των προς μετάγγιση παραγώνων ή άλλων αιμοστατικών παραγόντων συνοψίζονται ως εξής:

1) ΣΕ (συμπυκνωμένα ερυθρά): μπορεί να απο-

βούν σωτήρια στην περίπτωση βαρείας αναιμίας- υποογκαιμίας και επιπροσθέτως βελτιώνουν την λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων. Ωστόσο **επιδεινώνουν την πυλαία υπέρταση** και τον κίνδυνο κισσορραγίας. Η διατήρηση Hb ~7-8g/dl θεωρείται ικανοποιητική στον χρόνιο ηπατοπαθή. Η αλόγιστη χρήση επιπλέον αυξάνει τους κινδύνους τους σχετιζομένους με μετάγγιση.^{4,9,25}

2) FFP (Φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα): η χορήγηση του συνιστά μία συνήθη πρακτική στον ηπατοπαθή είτε προ επεμβάσεων είτε σε αιμορραγία. Αντικαθιστά τόσο παράγοντες πήξης όσο και ανασταλτές.^{4,9} Ωστόσο **η χρησιμότητά του δεν έχει αποδειχθεί**^{9,16,25} καθώς μπορεί να διορθώσει εν μέρει τους χρόνους πήξης, δεν επηρεάζει όμως την τελική παραγωγή θρομβίνης.^{16,24} Το βασικό μειονέκτημα της χρήσης του είναι η αύξηση του όγκου αίματος και της πυλαίας υπέρτασης και πάντα οι κίνδυνοι που σχετίζονται με την μετάγγιση.^{4,6,24}

3) Αιμοπετάλια: Παρέχουν την επιφάνειά τους για την παραγωγή θρομβίνης. Ως εκ τούτου οι περισσότεροι συμφωνούν πως **δικαιολογείται η χορήγησή τους** είτε προφυλακτικά είτε επί αιμορραγίας όταν η τιμή είναι **<50x10⁹/L**.^{4,9,25}

4) Δεσμοπρεσσίνη (DDAVP): Παρά τις ελάχιστες παρενέργειές της και την εργαστηριακή βελτίωση της πρωτογενούς αιμόστασης, η αποτελεσματικότητά της δεν έχει αποδειχθεί στην ηπατική νόσο.^{4,9} Πιθανώς να ωφελεί ασθενείς με **ουραιμία** και μπορεί να ελαττώνει την αιμορραγία **μετά εξαγωγή οδόντος**.^{6,25}

5) Σκευάσματα προθρομβινικού συμπλέγματος: Βασικό πλεονέκτημα του προϊόντος είναι ότι περιέχει 20πλάσια ποσότητα παραγόντων σε σχέση με το FFP και έχει **μικρό όγκο** έγχυσης.^{4,6} Η αποτελεσματικότητά του δεν έχει τεκμηριωθεί καθώς απαιτούνται τυχαιοποιημένες μελέτες που δεν έχουν προς το παρόν ολοκληρωθεί. Έχει ωστόσο χορηγηθεί με επιτυχία **σε σοβαρή αιμορραγία**- εξασφαλίζει προσωρινή αιμόσταση- αλλά απαιτείται προσοχή στη δοσολογία καθώς πάντα ελλοχεύει **ο κίνδυνος των θρομβώσεων**.^{4,6,25}

6) Αντι-ινωδολυτικοί παράγοντες (τρανεξαμικό οξύ, ε-αμινοκαπρικό οξύ): Υπάρχει η καλή εμπειρία από την χρήση τους στην χειρουργική του ήπατος -ηπατεκτομές και μεταμόσχευση – όπου φαίνεται να ελαττώνουν τις ανάγκες μεταγγίσεων.^{4,6} Επίσης συνιστάται όπου υπάρχει **κλινική υποψία υπερ-ινωδόλυσης** και τοπικά ή από του στόματος σε **εξαγωγές οδόντων**.^{3,9,6,25} Δεν υπάρχουν στοιχεία ή τυχαιοποιημένες μελέτες για την αποτελεσματικότητά τους σε άλλες αιμορραγίες στην κίρρωση.^{4,6,9}

7) Αγωνιστές υποδοχέων θρομβοποιητίνης (el-trombopag): Αυξάνουν τον αριθμό των αιμοπεταλίων πολύ περισσότερο από τη μετάγγιση αλλά **εξαιτίας θρομβωτικών επιπλοκών** οι μελέτες στους κίρρωτικούς διεκόπησαν.^{6,16,24}

8) rFVIIa: Άμεση αλλά παροδική δράση εξαιτίας του μικρού χρόνου ημιζωής, **μεγάλο κόστος** και χωρίς αποδεδειγμένο κλινικό όφελος σε τυχαίοποιημένες μελέτες. Η μη εγκεκριμένη χρήση (**off label**) και ο **κίνδυνος θρομβώσεων** το απομακρύνουν από τη φαρέτρα των φαρμάκων για την ηπατοπάθεια.^{3,9,25}

9) Βιταμίνη Κ: Η χορήγηση 10mg IV επί 2-3 ημέρες μπορεί να ανατάξει την έλλειψη εξαιτίας χολόστασης, δυσσπορρόφησης, κακής θρέψης από αλκοολισμό, χρήσης αντιβιοτικών ευρέως φάσματος. **Συστηματική χορήγηση δεν συνιστάται** ως μέσον αύξησης των παραγόντων της πήξης στην ηπατική νόσο.^{6,9,25}

Ο έλεγχος των λοιμώξεων, της ουραιμίας και της πυλαίας υπέρτασης κατέχουν σημαντικό ρόλο στην στρατηγική αντιμετώπισης του ηπατοπαθούς που αιμορραγεί. **Η αγωγή πρέπει να εξατομικεύεται** έχοντας πάντα κατά νου ότι οι θεραπευτικές μας παρεμβάσεις ενέχουν τον κίνδυνο **"ιατρογενούς" θρόμβωσης**.

Θρόμβωση

Η **φλεβοθρόμβωση** πρέπει να αντιμετωπίζεται και στον ηπατοπαθή με την χορήγηση LMWH και αντιβιταμινών Κ. Χρειάζεται **εξατομίκευση** και στενή παρακολούθηση για τον κίνδυνο της αιμορραγίας. Πρέπει να προηγείται έλεγχος για κίρρωση οισοφάγου και αντιμετώπιση με ενδοσκοπική εξάλειψη ή/και φαρμακευτική αγωγή(β-αναστολείς). Αριθμός αιμοπεταλίων $>50 \times 10^9/L$ παρέχει σχετική ασφάλεια, ενώ η αντιμετώπιση τυχόν λοίμωξης κρίνεται απαραίτητη για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου αιμορραγίας.^{7,23,26,27}

Στην **αρτηριακή θρόμβωση** θα πρέπει να δίδεται δευτερογενής πρόληψη με αντιαιμοπεταλικά φάρμακα (**ασπιρίνη**) εφόσον δεν υπάρχει απόλυτη αντένδειξη και τα **αιμοπετάλια είναι $>50 \times 10^9/L$** .^{16,24,27}

Στη **θρόμβωση της πυλαίας φλέβας** πρέπει ομοίως στην οξεία φάση να δίδεται άμεσα **αντιπηκτική αγωγή** -η οποία θεωρείται ασφαλής και αποτελεσματική^{6,28}- πάντα με προσοχή και εξατομίκευση όπως ανωτέρω αναφέρεται. Χορηγείται τουλάχιστον για 3-6 μήνες (εκτός αν υπάρχει ένδειξη για επί μακρόν χορήγηση) με πιθανότητα 40-70% πλήρους επανασηραγοποίησης.^{6,7,19} Η βατότητα της πυλαίας φλέβας εκτός από την βελτίωση της πρόγνωσης της κίρρωσης σχετίζεται και με την έκβαση της μεταμόσχευσης ήπατος. Η θρόμβωση αυξάνει τον κίνδυνο

απώλειας του μοσχεύματος και κατά 30% τη μετά τη μεταμόσχευση θνητότητα.^{5,6,19}

Η **εργαστηριακή παρακολούθηση** και η ρύθμιση της αντιθρομβωτικής αγωγής στην ηπατική νόσο απαιτεί **εξειδίκευση**.⁶ Ο χρόνος προθρομβίνης και το INR είναι συχνά παρατεταμένα προ της έναρξης της αγωγής με αντιβιταμίνες Κ και έτσι ο θεραπευτικός στόχος που ορίζουμε (INR: 2-3) μπορεί να είναι στην πραγματικότητα υπο-θεραπευτικός και να συνοδεύεται από θρομβωτικές επιπλοκές. Αλλά και το αντίθετο μπορεί να προκύψει -δηλαδή αιμορραγική επιπλοκή στη προσπάθεια να αυξηθεί κανείς περαιτέρω το θεραπευτικό εύρος.^{6,10,26} Χρειάζονται τυχαίοποιημένες μελέτες που να αξιολογούν τη ρύθμιση, την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια των αντιβιταμινών Κ στην ηπατική νόσο καθώς και νέες εξειδικευμένες εργαστηριακές δοκιμασίες.^{6,26}

Οι **LMWH** σε προκαθορισμένες δόσεις ανάλογες με το ΣΒ του ασθενούς φαίνεται να είναι ασφαλείς και αποτελεσματικές. Δεν συνιστάται να παρακολουθείται εργαστηριακά η δράση τους με την **αντι-Χα δραστηκότητα** καθώς μπορεί να είναι **χαμηλή** -εξαιτίας και των μειωμένων επιπέδων της αντιθρομβίνης. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένη αύξηση της δόσης και κίνδυνο αιμορραγίας.^{6,10,26,27}

Τέλος, είναι ακόμη σήμερα ασαφές αν θα πρέπει οι νοσηλευόμενοι ασθενείς ή/και αυτοί με υψηλό κίνδυνο θρόμβωσης- όπως ηλικία <45 , χειρουργείο, ακινητοποίηση, καρκίνος -να προφυλάσσονται με αντιθρομβωτική αγωγή. Υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι η **προφυλακτική χορήγηση LMWH** σε ηπατοπαθείς αυξημένου κινδύνου για θρόμβωση είναι αποτελεσματική και ασφαλής.^{29,30} Αν και αρκετοί θεωρούν πως θα πρέπει να παρέχεται⁶, ιδιαίτερα σε επιλεγμένους ασθενείς που δεν έχουν υψηλό κίνδυνο αιμορραγίας (ουραιμία κ.λπ.), ποσοστό $>75\%$ των ηπατοπαθών σήμερα δεν προφυλάσσεται.^{26,29} Απαιτούνται μεγάλες προοπτικές μελέτες για να αναγνωριστούν τελικά οι ομάδες που θα ωφεληθούν.²⁶

Η υπόθεση ότι η συστηματική αντιθρομβωτική αγωγή περιορίζει την δημιουργία ενδοηπατικών μικροθρομβώσεων άρα και την εξέλιξη της ηπατικής νόσου προς κίρρωση, αποτελεί πιθανώς μία δελεαστική, επαναστατική -μελλοντική αντιμετώπιση των ηπατοπαθών. Τα αποτελέσματα ήδη μίας μικρής τυχαίοποιημένης μελέτης είναι ενθαρρυντικά. Η χορήγηση προφυλακτικής δόσης ενοξαπαρίνης σε κίρρωτικούς ασθενείς επί ένα χρόνο, απέδειξε ότι όχι μόνο απέτρεψε τη θρόμβωση της πυλαίας αλλά και **καθυστέρησε την εξέλιξη της κίρρωσης σε μη αντιρροπούμενη** αυξάνοντας την επιβίωση.³¹

Σε κάθε περίπτωση, παραμένουν πολλά άλλα ερωτήματα που πρέπει να απαντηθούν όπως: ποια είναι η κατάλληλη ομάδα-στόχος που θα ωφεληθεί από την αντιπηκτική αγωγή, ποιος ο βέλτιστος αντιθρομβωτικός παράγοντας και τέλος η κατάλληλη δόση που θα εξασφαλίσει την μέγιστη ασφάλεια στον χρόνιο ηπατοπαθή ασθενή.²⁷

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Tripodi A, Mannucci P. The coagulopathy of chronic liver disease. *N Engl J Med*. 2011; 365:147-56.
2. Tripodi A, Primignani M, Mannucci P. Abnormalities of hemostasis and bleeding in chronic liver disease: the paradigm is challenged. *Intern Emerg Med*. 2010;5:7-12.
3. Caldwell SH, Hoffman M, Lisman T, Macik BG, Northup P, Reddy KR et al. Coagulation disorders and hemostasis in liver disease: Pathophysiology and critical assessment of current management. *Hepatology*. 2006;44:1039-46.
4. Lisman T, Caldwell SH, Burroughs AK, Northup P, Senzolo M, Stravitz RT et al. Hemostasis and thrombosis in patients with liver disease: the ups and downs. *J Hepatol*. 2010;53:362-71.
5. Violi F, Ferro D. Clotting activation and hyperfibrinolysis in Cirrhosis: implication for bleeding and thrombosis. *Semin Thromb Hemost*. 2013;39:426-33.
6. Andriulli A, under the auspices of AISF and SIMI. Hemostatic balance in patients with liver cirrhosis: Report of a consensus conference. *Dig Liver Dis*. 2016;48:455-67.
7. Blasi A. Coagulopathy in liver disease: Lack of an assessment tool. *World J Gastroenterol*. 2015;21:10062-71.
8. Porte RJ, Lisman T, Tripodi A, Caldwell SH, Trotter JF and the coagulation in liver disease study group. The international normalized ratio (INR) in the MELD score: problems and solutions. *Am J Transplant*. 2010;10:1349-53.
9. Amarapurkar PD, Amarapurkar DN. Management of Coagulopathy in patients with decompensated liver cirrhosis. *Int J Hepatol*. 2011;2011:695470. doi: 10.4061/2011/695470. Epub 2011 Nov 17-5
10. Valla DC, Rautou PE. The Coagulation system in patients with end-stage liver disease. *Liver Int*. 2015;35:139-44.
11. Tripodi A, Primignani M, Chantarangkul V, Dellera A, Clerici M, De Franchis R et al. An imbalance of pro-vs anti-coagulation factors in plasma from patients with cirrhosis. *Gastroenterol*. 2009;137:2105-11.
12. Stravitz RT. Potential applications of thromboelastography in patients with acute and chronic liver disease. *Gastroenterol Hepatol*. 2012;8:513-20.
13. Rodriguez-Castro KI, Antonello A, Ferrarese A. Spontaneous bleeding or thrombosis in cirrhosis: What should be feared the most? *World J Hepatol*. 2015;7:1818-27.
14. Li J, Qi X, Deng H, Peng Y, Shao L, Ma J et al. Association of conventional haemostasis and coagulation tests with the risk of acute upper gastrointestinal bleeding in liver cirrhosis: a retrospective study. *Gastroenterol Rep (Oxf)*. 2015 Dec 15. pii: gov059
15. Cho J, Choi SM, Yu SJ, Park YS, Lee CH, Lee SM et al. Bleeding complications in critically ill patients with liver cirrhosis. *Korean J Intern Med*. 2016;31:288-95.
16. Mannucci P, Tripodi A. Hemostatic defects in liver and renal dysfunction. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012:168-73. doi: 10.1182
17. Agarwal S, Joyner KA, Swaim MW. Ascites fluid as a possible origin for hypofibrinolysis in advanced liver disease. *Am J Gastroenterol*. 2000;95:3218-24.
18. Anstee QM, Dhar A, Thursz MR. The role of hypercoagulability in liver fibrogenesis. *Clin Research Hepatol Gastroenterol*. 2011, 35:526-33.
19. Tripodi A, Anstee QM, Sogaard KK, Primignani M, Valla DC. Hypercoagulability in cirrhosis: causes and consequences. *J Thromb Haemost*. 2011, 9:1713-23.
20. Northup PG, Sundaram V, Fallon MB, Reddy KR, Balogun RA, Sanyal AJ et al. Hypercoagulation and thrombophilia in liver disease. *J Thromb Haemost*. 2008;6:2-9.
21. Poujol-Robert A, Rosmorduc O, Serfaty L, Coulet F, Poupon R, Robert A. Genetic and acquired thrombotic factors in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 2004, 99:527-31.
22. Gulley D, Teal E, Suvannasankha A, Chalasani N, Liang-punsakul S. Deep vein thrombosis and pulmonary embolism in cirrhosis patients. *Dig Dis Sci*. 2008;53:3012-17.
23. Yang ZJ, Costa KA, Novelli EM, Smith RE. Venous thromboembolism in cirrhosis. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2014;20:169-78.
24. Mannucci P, Tripodi A. Liver disease, coagulopathies and transfusion therapy. *Blood Transfus*. 2013;11:32-6.
25. Shah NL, Intagliata NM, Northup P, Argo CK, Caldwell SH. Procoagulant therapeutics in liver disease: a critique and clinical rationale. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014;11:675-82.
26. Khoury T, Ayman AR, Cohen J, Daher S, Shmuel C, Mizrahi M. The complex role of anticoagulation in cirrhosis: an updated review of where we are and where we are going. *Digestion*. 2016; 93:149-59.
27. Hugenholtz G, Northup PG, Porte RJ, Lisman T. Is there a rationale for treatment of chronic liver disease with antithrombotic therapy? *Blood Rev*. 2015;29:127-136.
28. Delgado MG, Seijo S, Yepes I, Achezar L, Catalina MV, Criado A et al. Efficacy and safety of anticoagulation on patients with cirrhosis and portal vein thrombosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10:776-783.
29. Al-Dorzi HM, Tamim HM, Aldawood AS, Arabi YM. Venous thromboembolism in critically ill cirrhotic patients: practices of prophylaxis and incidence. *Thrombosis*. 2013;2013:807526. doi: 10.1155/2013/807526.
30. Intagliata NM, Henry ZH, Shah N, Lisman T, Caldwell SH, Northup PG. Prophylactic anticoagulation for venous thromboembolism in hospitalized cirrhosis patients is not associated with high rates of gastrointestinal bleeding. *Liver Int*. 2014;34:26-32.
31. Villa E, Camma C, Marietta M, Luongo M, Critelli R, Colopi S, et al. Enoxaparin prevents portal vein thrombosis and liver decompensation in patients with advanced cirrhosis. *Gastroenterology*. 2012;143:1253-60.