

## I network di riferimento per le malattie rare: lo stato dell'arte per l'emoglobinuria parossistica notturna

Network references for rare diseases: state of the art for the paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Rossella Alfano,<sup>1</sup> Raffele Palladino,<sup>1</sup> Antonio Risitano,<sup>2</sup> Teresa De Pascale,<sup>1</sup> Maddalena Raia,<sup>4</sup> Davide Castrianni,<sup>1</sup> Marina Silvia Scamardo,<sup>1</sup> Vincenza Cerbone,<sup>4</sup> Daniela Schiavone,<sup>3</sup> Gaetano D'Onofrio,<sup>3</sup> Gaetano Buonocore,<sup>3</sup> Maria Triassi,<sup>1</sup> Luigi Del Vecchio,<sup>4</sup> Fabiana Rubba<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di sanità pubblica, Azienda ospedaliero-universitaria "Federico II", Napoli

<sup>2</sup> UOC ematologia, Azienda ospedaliero-universitaria "Federico II", Napoli

<sup>3</sup> Direzione, Azienda ospedaliero-universitaria "Federico II", Napoli

<sup>4</sup> Centro di ricerca CEINGE – Biotecnologie Avanzate, Azienda ospedaliero-universitaria "Federico II", Napoli

**Corrispondenza:** Fabiana Rubba; fabiana.rubba@unina.it

### RIASSUNTO

**INTRODUZIONE:** recentemente, in sanità i network si sono proposti come modelli in grado di aumentare la consapevolezza delle patologie rare tra i pazienti e al tempo stesso migliorare le conoscenze specifiche degli operatori sanitari in campo diagnostico, terapeutico e manageriale. L'emoglobinuria parossistica notturna (*paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*, PNH) è una malattia ematologica rara per la quale a oggi non è stato formalizzato un network né a livello internazionale né a livello nazionale nel nostro Paese. **OBIETTIVI:** indagare lo stato di attuazione di modelli a network nella prevenzione, sorveglianza, diagnosi o terapia della PNH in Italia e negli altri Paesi, nonché l'impatto che questo modello a network assume nei confronti dei pazienti e del sistema sanitario stesso. **DISEGNO:** come fonte per la ricerca bibliografica sono stati utilizzati i database di MedLine ed EMBASE e la ricerca è stata effettuata utilizzando come parole chiave "Hemoglobinuria", "Network", "PNH" e "Screening", combinate con gli operatori booleani. L'analisi è stata ristretta ai lavori pubblicati negli ultimi 5 anni in lingua italiana, inglese o francese. **RISULTATI:** dei 51 studi individuati per la ricerca, solo 21 sono stati inclusi nella presente *review*. Nessuno studio in letteratura ha descritto esplicitamente l'attuazione di un modello a network per la gestione della PNH. È stato, tuttavia, possibile individuare due tipi di strutture organizzative a network, descritte implicitamente dai diversi studi, ovvero: l'organizzazione di network laboratoristiche di diagnosi della malattia (10 studi su 21) e l'istituzione di registri di patologia nazionali o internazionali (11 studi su 21). **CONCLUSIONI:** allo stato attuale, l'applicazione di modelli di network per la gestione della PNH è scarsa e frammentaria. Nonostante pochi studi abbiano descritto modelli a network per la PNH, dalla revisione è emerso che l'attuazione dei network ha potenzialità in grado di generare effetti positivi sia sui pazienti sia sull'intero sistema sanitario. L'organizzazione in modelli a network dei servizi di diagnostica, cura e presa in carico dei pazienti affetti da PNH ha un potenziale effetto positivo sia sul sistema sanitario sia sui pazienti stessi.

**Parole chiave:** malattie rare, network, PNH, screening, test diagnostici

### ABSTRACT

**BACKGROUND:** recently, healthcare network models have been proposed to improve general awareness of rare diseases for patients and specific knowledge about diagnosis, treatment, and management for healthcare services. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a rare haematological disease that still has no framing in an official network. **OBJECTIVES:** to describe the use of network models

in diagnosis, treatment, and management of PNH patients both in Italy and abroad and its impact on patients and healthcare service.

**DISEGN:** literature search was performed using the keywords "Hemoglobinuria", "Network", "PNH", and "Screening" in both MedLine and EMBASE. Search was restricted to the articles published in the last 5 years and written in English, French or Italian language. **RESULTS:** from the total 251 articles of the initial search, only 21 were finally included in our review. None of the included study explicitly described a network model. In general, we were able to identify two different kind of networks implicitly described in the studies: laboratory networks for diagnostic harmonization or screening of the population at risk of PNH (10/21 studies) and PNH registry as network of clinical information to be use for better understanding of the natural history of the disease and to assess therapeutic effectiveness (11/21 studies). **CONCLUSIONS:** few network approaches in PNH diagnosis, treatment, and management are described in literature. Despite the scarce application of the networks, our review highlights the positive impact that networks have in both patients and healthcare services.

**Keywords:** rare diseases, community networks, paroxysmal haemoglobinuria, diagnosis

### COSA SI SAPEVA GIÀ

- La direttiva Europea 2011/24/EU, recepita dalla normativa italiana, prevede la gestione delle malattie rare attraverso un approccio globale con modelli di network particolarmente incentrati sul tema della qualità dell'assistenza e la ricerca farmacologica.
- L'emoglobinuria parossistica notturna (PNH) è una malattia ematologica rara per la quale a oggi non è stato formalizzato un network né a livello internazionale né a livello nazionale nel nostro Paese.

### COSA SI AGGIUNGE DI NUOVO

- I risultati della revisione hanno permesso di individuare due tipologie di network descritte solo implicitamente dai diversi studi, cioè l'organizzazione di network laboratoristici di diagnosi della malattia e l'istituzione di registri di patologia nazionali o internazionali.
- Nonostante l'applicazione dei modelli a network sia risultata scarsa per la PNH, dalla revisione è emerso che i network, per la maggior parte, hanno messe in evidenza peculiari profili dei pazienti o testato nuove modalità di screening, più semplici e pertanto più fruibili nell'ambito del sistema sanitario.

## INTRODUZIONE

L'emoglobinuria parossistica notturna (*paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*, PNH) è una patologia rara clonale acquisita.<sup>1</sup> L'eziopatogenesi vede coinvolto il gene PIGA (Xp22.1),<sup>2</sup> che, secondo la *escape theory*, in un processo a due *step* subisce una serie di mutazioni somatiche nelle cellule ematopoietiche che ne determinano un'espansione clonale.<sup>3</sup> L'espansione clonale determina la diminuzione o il blocco totale della sintesi delle proteine di ancoraggio di glicosilfosfatidilinositolo (GPI) che sono coinvolte nella regolazione del complemento.<sup>4</sup> L'assenza delle proteine GPI rende le cellule ematopoietiche vulnerabili alla lisi mediata del complemento e dà vita alla manifestazione fenotipica caratterizzata classicamente dalla triade: anemia emolitica corpuscolare, trombosi e aplasia midollare.<sup>1,5</sup>

I dati presenti in letteratura stimano che l'incidenza della PNH sia di circa 1,5 casi per milione di abitanti per anno,<sup>1</sup> con una prevalenza di 15 casi per milione di abitanti a 15 anni.<sup>6</sup> La PNH colpisce in modo uguale entrambi i sessi, l'età mediana alla diagnosi è poco oltre i trent'anni, anche se non mancano casi di diagnosi in età pediatrica, adolescenziale e senile.<sup>7</sup> Come molte altre malattie rare, anche per la PNH, che è una patologia cronica, vi è una riduzione della sopravvivenza<sup>5</sup> e un forte impiego di risorse sanitarie implicate nella gestione clinica e terapeutica, anche a causa della complessa gestione che va dalla fase acuta di insorgenza, in cui di solito la PNH viene diagnosticata, alla gestione cronica della stessa.

Fino a pochi anni fa, l'unica opzione curativa della PNH era il trapianto allogenico gravato; tuttavia, tale procedura è associata a un'elevata morbilità e mortalità.<sup>7,8</sup> Pertanto, la terapia della PNH era prevalentemente sintomatica e si avvaleva di analgesici, anticoagulanti e trasfusioni da somministrare al bisogno. Nel 2007, l'approvazione dell'uso di eculizumab come farmaco per il trattamento della PNH ha rivoluzionato la storia naturale della malattia. L'eculizumab si è dimostrato efficace, secondo una recente revisione, nella riduzione delle necessità trasfusionali e nel miglioramento della qualità della vita dei pazienti.<sup>8</sup>

Una diagnosi precoce può compensare la criticità tipica del ritardo diagnostico che affligge i pazienti che hanno una malattia rara<sup>5</sup> migliorando la gestione del percorso clinico e, in ultimo, la qualità di vita dei pazienti. Per le malattie rare, esplorare e intercettare i casi prima che siano conclamati è una sfida che si pone l'obiettivo di giungere quanto prima a un sistema di cure preciso e accurato.<sup>9-11</sup> A oggi, il *gold standard* per effettuare la diagnosi definitiva è la citometria a flusso con antigeni che si legano alle proteine GPI.<sup>9,10</sup> Nonostante ciò, l'approccio comune resta spesso la gestione dei casi conclamati e, partendo esclusivamente dalle sindromi cliniche, le persone affette incon-

trano spesso difficoltà nel raggiungere un percorso clinico completo e appropriato.<sup>11</sup>

Risulta chiaro che sviluppare una visione integrata di sanità pubblica è fondamentale per costruire un percorso di cura appropriato. A livello europeo, questa visione integrata è stata teorizzata, per tutte le malattie rare in generale, dalla Direttiva europea 2011/24/EU, che prevede la gestione delle malattie rare attraverso un approccio globale con modelli di network particolarmente incentrati sul tema della qualità dell'assistenza e la ricerca farmacologica. Nello specifico, l'articolo 12 definisce le modalità con cui si stabiliscono i network europei per le malattie rare (*European reference network*, ERN) basandosi su specifici criteri regolatori (2014/286/EU, 2014/287/EU). Un network ERN nasce appunto con la finalità di mettere in connessione vari centri di eccellenza (EC) per costruire percorsi di cura appropriati e migliorare l'accesso agli stessi e l'implementazione di nuove tecnologie. Nodi principali del network sono i presidi accreditati, quasi sempre ospedalieri, che cooperano con gli altri presidi del network ed elaborano piani diagnostico-terapeutici assistenziali (PDTA) come stabilito dal Piano nazionale malattie rare 2013-2016. Attraverso applicazioni dedicate, i PDTA vengono inseriti nel sistema dei network europei che ricomprendono quasi tutte le patologie rare; più precisamente, la PNH fa parte del network ematologico ERN EUROBLOODNET. In questo contesto, la presente *scoping review* si propone di indagare lo stato di attuazione di modelli a network nella prevenzione, sorveglianza, diagnosi e nella terapia della PNH in Italia e negli altri Paesi, nonché l'impatto che tale modello a network assume nella presa in carico di pazienti e dell'inquadramento della patologia nel sistema sanitario stesso.

## METODI

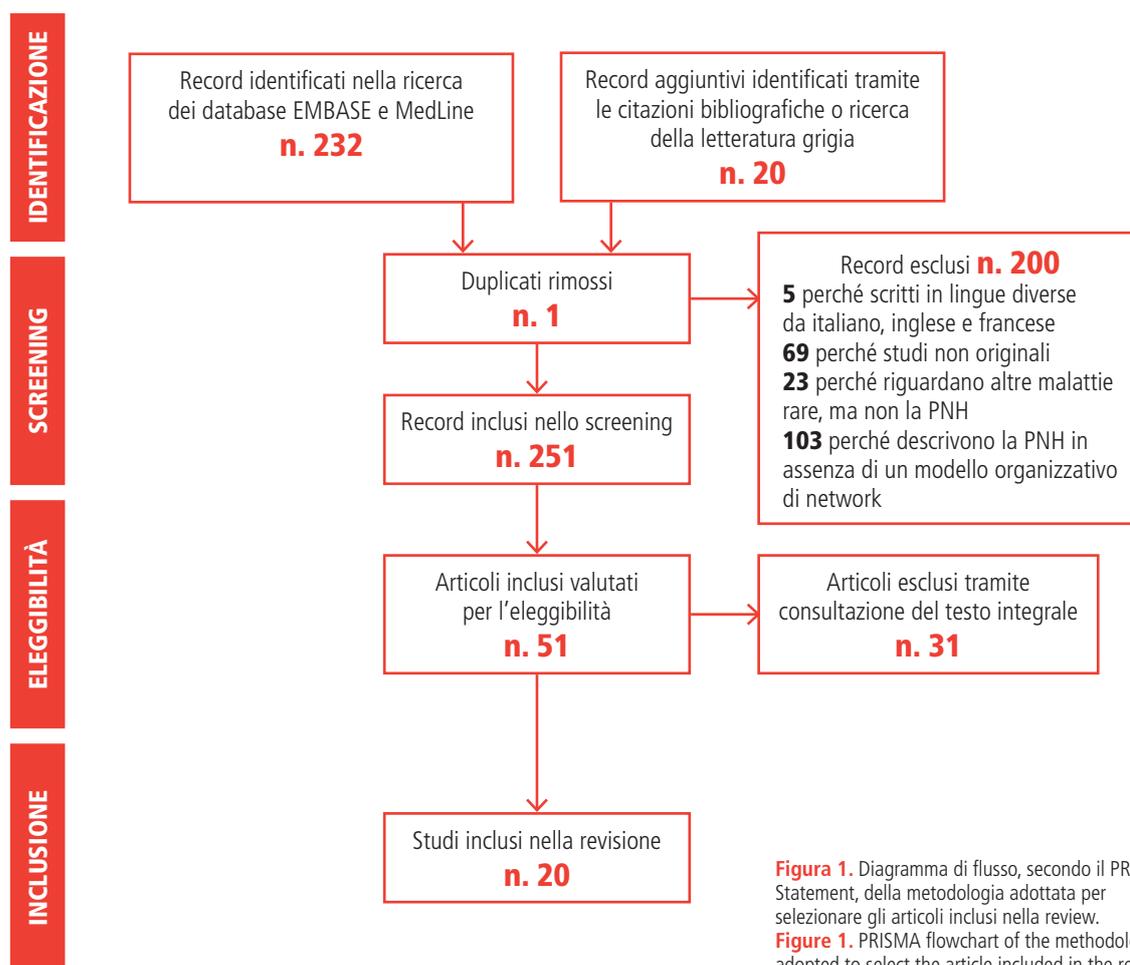
La presente *scoping review* è stata condotta secondo lo schema metodologico proposto precedentemente in letteratura<sup>12,13</sup> e modificato strutturandolo in 5 fasi:

1. formulazione della domanda della ricerca;
2. identificazione degli studi rilevanti;
3. selezione degli studi;
4. organizzazione dei dati;
5. sintesi dei risultati.

La domanda della ricerca a cui questo studio si propone di rispondere è la seguente: «Qual è lo stato d'attuazione del modello a network nelle azioni di prevenzione, sorveglianza, diagnosi o nella terapia della PNH?».

Secondariamente si è cercato di rispondere alla domanda: «Quali effetti ha prodotto l'attuazione del modello a network sul paziente e sul sistema sanitario?».

Il processo di revisione degli studi è stato articolato, secon-



do il *PRISMA statement*, in 4 fasi, come descritto in figura 1: identificazione, screening, eleggibilità e inclusione.

Come fonte per la ricerca bibliografica, sono stati utilizzati i database di MedLine ed EMBASE e la ricerca è stata effettuata utilizzando come parole chiave "Hemoglobinuria", "Network", "PNH" e "Screening" combinate con gli operatori booleani. L'analisi è stata ristretta ai lavori pubblicati negli ultimi 5 anni; si è assunta questa fascia temporale, poiché in contemporanea è stato sviluppato il modello europeo di network di riferimento.

Lo screening dei titoli e degli abstract di tutti gli articoli inclusi nella *review* è stato condotto da due Autori indipendentemente

Sono stati adottati i seguenti criteri di esclusione: • testo dell'articolo scritto in lingua diversa dall'italiano, inglese o francese; • studio non originale; • malattia rara diversa dalla PNH; • assenza di un modello organizzativo a network. Nessuna restrizione è stata applicata relativamente al disegno di studio adottato nei differenti articoli scientifici. I criteri di inclusione minimali hanno previsto l'originalità dell'articolo e la presenza di un network esplicito o implicito.

Sono state, infine, estratte le informazioni relative a: • disegno dello studio; • Paese in cui lo studio è stato condotto; • dimensione e fascia d'età del campione oggetto di studio; • unità di analisi in studio; • tipo di attività; • attori coinvolti nel network; • sintesi dei risultati dello studio; • impatto che l'utilizzo di tale approccio ha determinato sui pazienti e/o sul sistema sanitario.

## RISULTATI

Dei 251 studi inizialmente individuati tramite la ricerca, solo 20 sono stati inclusi nella presente *review* (figura 1). Tutti gli studi effettuati sono osservazionali. Perlopiù, i dati analizzati provengono da Paesi dell'Europa (5 studi solo in Italia) e dell'America e solo in 3 casi sono state descritte casistiche di Paesi a economia emergente.<sup>14-16</sup> La dimensione della popolazione in studio è risultata altamente variabile, con una forbice che oscilla tra un minimo di 7 pazienti, i cui campioni di sangue sono stati utilizzati per effettuare un confronto della citometria a flusso (CF) ad alta sensibilità tra laboratori in Russia,<sup>14</sup> fino a un massimo di 5.398 pazienti che sono stati arruolati nel corso di 5 anni in uno studio multicentrico negli Stati Uniti per valutare il rischio di

PNH nei pazienti affetti da insufficienza midollare.<sup>17</sup> Solo in pochi casi è stata analizzata la popolazione pediatrica. In particolare, 2 studi hanno analizzato i dati provenienti dai centri afferenti all'Associazione italiana di ematologia e oncologia pediatrica (AEIOP),<sup>18,19</sup> mentre uno studio canadese ha analizzato il rischio che i pazienti pediatrici canadesi con sindrome da insufficienza midollare ereditaria hanno di presentare una malattia clonale.<sup>20</sup> È stata riscontrata una grande variabilità dell'unità di analisi. La maggior parte degli studi ha analizzato campioni ematici o dati clinici di pazienti affetti da PNH. Fanno eccezione uno studio che ha valutato le differenze nelle metodiche di screening per la PNH tra più di cento laboratori britannici tramite un questionario<sup>21</sup> e un altro che ha studiato la variabilità fra laboratori non solo nell'analisi dei campioni ematici, ma anche nella refertazione dei file citofluorimetrici.<sup>22</sup> Nessuno studio incluso nel lavoro teorizza o descrive esplicitamente l'applicazione di un modello a network; tuttavia, si sono potuti identificare 2 tipi di modelli a network della PNH descritti implicitamente negli studi: il network delle attività laboratoristiche e il network dei dati clinici.

#### NETWORK DELLE ATTIVITÀ LABORATORISTICHE

Il network delle attività laboratoristiche è stato descritto in 10 studi sui 20 inclusi nella *review*, come riportato in tabella 1. Questo network può essere a sua volta strutturato secondo due modelli differenti

1. la raccolta di campioni ematici da vari centri periferici può essere indirizzata a un unico laboratorio centralizzato di riferimento, come descritto in tre studi;<sup>17,18,23</sup>
2. i vari centri laboratoristici periferici sono responsabili delle analisi, pur condividendo protocolli e linee guida comuni con la finalità di creare armonizzazione diagnostica. Uno studio ha comparato le attività di screening svolte tramite laboratori periferici in Spagna e mediante un unico laboratorio di riferimento centrale in Brasile, concludendo che l'efficacia dello screening è simile nei due setting;<sup>16</sup> al contrario, uno studio britannico ha rilevato la superiorità dei laboratori di riferimento nell'identificazione della malattia rispetto ai laboratori periferici,<sup>24</sup> suggerendo la necessità di applicare linee guida e protocolli comuni.<sup>24</sup>

Per quanto riguarda la metodica laboratoristica, tutti gli studi hanno utilizzato la citofluorimetria. Tutti gli studi hanno utilizzato la metodica a 6 colori, a eccezione di uno studio che ha valutato l'efficacia della metodica a 4 colori<sup>14</sup> e un altro che ha valutato efficacia e fattibilità della metodica a 2 colori.<sup>25</sup>

#### NETWORK DEI DATI CLINICI

Il network dei dati clinici è stato descritto in 2 studi inclusi nella *review*, come riportato in tabella 2. Questo

network prevede l'istituzione di registri nazionali o internazionali volti all'accrescimento delle conoscenze sull'evoluzione naturale della malattia e delle potenzialità dei trattamenti terapeutici.

Solo due studi, però, hanno visto più Paesi collaborare alla creazione di registri internazionali,<sup>26,27</sup> mentre tutti gli altri descrivono registri nazionali. Tutti gli studi che hanno monitorato la progressione di malattia per identificare fattori di rischio, lo hanno fatto in modo retrospettivo, mentre solo uno studio recente ha utilizzato un disegno di studio prospettivo.<sup>26</sup> Tre studi hanno analizzato la risposta al trattamento farmacologico in termini di miglioramento della funzione renale,<sup>28</sup> di sopravvivenza<sup>29</sup> o di predittività del clone rispetto alla risposta al trattamento.<sup>15</sup> Uno di questi studi (Loschi)<sup>35</sup> ha adottato una metodica quasi sperimentale per la valutazione di efficacia dell'eculizumab in associazione al rischio di mortalità ed eventi trombotici (REF). Un unico studio ha valutato la qualità di vita,<sup>27</sup> mentre tutti gli altri hanno variamente utilizzato mortalità o incidenza dei sintomi.

#### DISCUSSIONE

Dalla presente *scoping review* è emerso che allo stato attuale l'applicazione di modelli di network per la gestione della PNH è scarsa e frammentaria. Nessuno studio in letteratura ha descritto esplicitamente l'attuazione di un modello a network per la gestione della PNH. Tuttavia, si sono potuti individuare due tipi di strutture organizzative a network, descritte implicitamente dai diversi studi, cioè l'organizzazione di network laboratoristici di diagnosi della malattia e l'istituzione di registri di patologia nazionali o internazionali.

I centri di laboratorio hanno un ruolo fondamentale nella PNH, dal momento che la diagnosi è laboratoristica. Dal punto di vista tecnico, il test diagnostico utilizzato è la citofluorimetria, che rappresenta il *gold standard* particolarmente in ragione della sua sensibilità elevata.<sup>10</sup> Tutti gli studi in esame in questa *review* hanno utilizzato la FC come test diagnostico della PNH, mentre in nessun caso sono state utilizzate analisi molecolari del gene PIG-A o dei prodotti genici, che, pur se non raccomandate come strumento diagnostico, risultano utili per investigare le interazioni molecolari e indirizzare verso nuove strategie farmacologiche.<sup>26,27</sup>

Data la bassa prevalenza della malattia, specialmente nel caso di laboratori che non si occupano di questa patologia né di routine né esclusivamente, sono molte le difficoltà a cui si può andare incontro sia in termini di difficoltà tecniche nell'analisi dei campioni sia di difficoltà d'interpretazione dei risultati della citofluorimetria. È proprio per questa ragione che molti centri laboratoristici scelgono di

aderire, volontariamente o meno, a network internazionali<sup>21,22,24,28</sup> oppure nazionali,<sup>14</sup> per armonizzazione le proprie procedure diagnostiche con quelle degli altri laboratori condividendo dati e strategie di analisi dei dati al fine di ridurre al minimo gli errori nella diagnosi della malattia. In questi casi, l'adesione al network avviene prevalentemente per un fine educativo, cioè per identificare i propri punti di debolezza su cui lavorare per migliorare sensibilità e specificità diagnostica. In questo ambito, si distingue uno studio che ha descritto una metodologia particolarmente innovativa secondo la quale vari laboratori si sono confrontati non solo sulle tecniche d'analisi di campioni patologici, ma anche sulla refertazione di casi virtuali, di particolare difficoltà.<sup>22</sup> L'identificazione di casi sommersi o arricchimento diagnostico va accuratamente studiata, perché non è a tutt'oggi noto un trattamento per la progressione della malattia e i casi individuati precocemente possono essere indirizzati al percorso diagnostico appropriato nei tempi giusti.

In altri casi, i network di laboratorio si prefiggono lo scopo di valutare non solo l'accuratezza diagnostica, ma anche l'appropriatezza dell'esecuzione di test di screening in particolari fasce di popolazione a rischio di malattia. Uno studio multicentrico degli Stati Uniti ha raccolto i dati di oltre 5.000 pazienti analizzati da più di 1.200 centri laboratoristici e li ha analizzati insieme in modo da poter raggiungere una dimensione campionaria tale da essere in grado di valutare la prevalenza di PNH non diagnosticata in soggetti affetti da insufficienza midollare.<sup>17</sup> In questo modo, lo studio è stato in grado di confermare che lo screening del clone PNH nei pazienti con insufficienza midollare, in particolare nei pazienti affetti da anemia aplastica, è utile per la gestione e cura dei pazienti.

Sempre in tema di appropriatezza, uno studio italiano ha effettuato un'analisi dei costi del test di screening della PNH.<sup>25</sup> Allo studio hanno partecipato oltre 30 laboratori in Campania e Piemonte che hanno valutato il risparmio economico e l'efficacia nell'esecuzione di un test rapido basato sull'aerolisina fluorescente (FLAER) che a oggi è diventato un elemento cruciale nei pannelli diagnostici, essendo in grado di legarsi all'ancora di GPI è capace di discriminare con un'alta sensibilità tra assenza e presenza di ancore GPI nei leucociti. La collaborazione dei laboratori facenti parte del network ha permesso di stabilire che il test rapido proposto nello studio è facile, riproducibile e permette un risparmio in termini economici, costando solo il 33% del test citofluorimetrico a flusso classico a 6 colori e il 25% di quello a 4 colori.

Il test di arricchimento diagnostico descritto nel lavoro di Gatti<sup>25</sup> nasce da una serie di sperimentazioni attuate in Campania, Piemonte e altre regioni italiane. In parti-

colare, in Campania il progetto regionale "Approach to PNH identification in Campania Region's initiative" (Rap Care) è stata integrato nel PDTA regionale che prevede oltre all'esecuzione del test rapido anche la costruzione di un network capace di gestire la fase clinica (unità ematologiche) e di laboratorio (laboratori di citofluorimetria)<sup>25</sup> e l'adozione di un algoritmo diagnostico a larga sensibilità.<sup>29</sup> In particolare, questo algoritmo si basa sulla presenza concomitante di una coppia di due su tre indicatori clinici (citopenia, emolisi moderata e trombosi atipica), combinati in sindromi: i pazienti che rientrano nelle sindromi sono indirizzati al test diagnostico in citofluorimetria. Testare in parallelo la presenza delle sindromi collegate alla diagnosi di PNH permette, dall'analisi delle probabilità, di individuare un *range* di sensibilità più ampio già nella fase di indagine clinica.<sup>29</sup> Altri PDTA sono stati codificati in Piemonte e Lombardia

Oltre a questo tipo di network laboratoristici, sono stati individuati anche network laboratoristici di tipo organizzativo all'interno dei quali più centri si dispongono a formare un network di tipo *hub e spoke*. In Italia, per esempio, due studi differenti hanno descritto network laboratoristici strutturati in laboratori periferici (gli *spoke*) che raccolgono i campioni da inviare a laboratori centrali (gli *hub*) che si occupano della fase analitica vera e propria.<sup>18,23</sup> Questa organizzazione permette di concentrare la fase analitica in un unico centro che acquisisce rapidamente un'ampia esperienza e dunque ha maggiore affidabilità diagnostica. Inoltre, la raccolta dei dati in un unico centro garantisce il raggiungimento di un numero critico di pazienti, tale da aumentare le possibilità di ricerca e studio e individuare per esempio gruppi a rischio di malattia che potrebbero trarre un beneficio nell'essere sottoposti a test di screening per l'identificazione della PNH (come i soggetti affetti da anemia aplastica).

Oltre ai network di laboratorio, sono stati identificati alcuni lavori nei quali implicitamente veniva descritto un modello di network nel quale i dati clinici venivano convogliati in registri di patologia.

L'istituzione di registri di patologia permette non solo di raccogliere dati clinici da singoli Paesi in modo da identificare le caratteristiche dei soggetti affetti da malattia, ma anche di confrontarli tra loro a livello internazionale.<sup>30-32</sup> Per esempio, uno studio ha confrontato le caratteristiche dei soggetti affetti da PNH a Taiwan con più di 3.000 pazienti di altre nazionalità e ha rivelato che, rispetto agli altri Paesi, la presentazione clinica della PNH più frequente a Taiwan comprende emoglobinuria, disfunzione erettile e dispnea, ma non la trombosi, come invece descritto classicamente negli altri Paesi.<sup>30</sup> Questo dato è importantissimo nell'orientare la diagnosi a livello territoriale.

ID	REFERENZA	PAESE	DISEGNO DI STUDIO	POPOLAZIONE DELLO STUDIO	UNITÀ DI ANALISI	ATTIVITÀ E ATTORI COINVOLTI NEL NETWORK	OUTCOME	RISULTATI DELLO STUDIO	IMPATTO DELLO STUDIO
1	Gatti 2017 <sup>25</sup>	Italia	Studio osservazionale trasversale multicentrico.	Pazienti affetti da PNH.	Campioni di sangue allestiti con percentuale di cloni PNH variabile tra 0 e 35.	Screening multicentrico in 6 laboratori.	Percentuale di cloni PNH di monocloni e granulociti identificati dai test di screening in esame.	Il confronto della performance dello screening mediante saggio a sei e due colori ha mostrato un ottimo accordo per i cloni PNH di granulociti.	Il test di screening a due colori è efficace e la sua fattibilità è stata valutata in programmi regionali.
2	Morado 2016 <sup>16</sup>	Spagna, Brasile	Studio osservazionale prospettico multicentrico.	3.938 pazienti senza una precedente diagnosi di PNH con segni/sintomi di PNH.	Campioni di sangue.	<ul style="list-style-type: none"> <li>screening multicentrico in 24 laboratori in Spagna;</li> <li>screening orientato verso un unico centro di riferimento in Brasile.</li> </ul>	Numero di casi PNH positivi identificati dai test di screening.	Lo screening fluorocitometrico è risultato altamente efficiente sia nel contesto multicentrico in Spagna (10% di campioni positivi) sia nel laboratorio di riferimento in Brasile (16% di campioni positivi). Lo 0,4% dei pazienti che era stato sottoposto allo screening a causa di trombosi inspiegabile in assenza di citopenia è risultato positivo per PNH.	<ul style="list-style-type: none"> <li>L'attuazione dello screening in network multicentrici o organizzati in modo da afferire a centri di riferimento è ugualmente efficiente;</li> <li>e è necessario implementare algoritmi di screening migliori per i pazienti che presentano trombosi inspiegata e conta delle cellule ematiche normale.</li> </ul>
3	Fletcher 2017 <sup>21</sup>	Regno Unito	Studio multicentrico di laboratorio.	105 laboratori del Regno Unito: i centri partecipanti al programma NEQAS LI in Regno Unito possono essere considerati la popolazione in studio.	Un questionario.	Screening multicentrico in 105 laboratori.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Numero di eventi gating per popolazione cellulare;</li> <li>tipologia di antigene utilizzato per gating di PNH e per la determinazione dei cloni PNH per popolazione cellulare;</li> <li>percentuale di cellule PNH richieste per linea cellulare per definire casi di PNH;</li> <li>numero minimo di popolazione leucocitaria per considerare la presenza di cloni PNH.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Il numero di eventi gating presentava un range variabile tra 100 e 1 milione per i globuli rossi e granulociti e 4 e 2,5 milioni per i monociti;</li> <li>il 74%, 62% e 76% dei laboratori utilizzavano almeno un antigene raccomandato dalle linee guida rispettivamente per i globuli rossi, granulociti e monociti;</li> <li>circa il 30% dei laboratori ha dichiarato una percentuale di cellule PNH richieste per definire un caso di PNH pari a quella raccomandata dalle linee guida;</li> <li>circa il 97% dei laboratori ha dichiarato un numero minimo di popolazione leucocitaria per considerare la presenza di cloni PNH pari a quella raccomandata dalle linee guida.</li> </ul>	La comprensione e l'applicazione delle linee guida sono necessarie per ridurre la variabilità nelle strategie di screening della PNH.
4	Deblquis 2015 <sup>22</sup>	Francia e Belgio, Lussemburgo, Svizzera	Studio multicentrico di laboratorio.	3 pazienti affetti da PNH e 2 pazienti sani.	3 file citofluorimetrici e 2 campioni di sangue.	Screening multicentrico in 49 laboratori partecipanti allo studio su base volontaria.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tipologia di citometro e software utilizzati per l'analisi dei dati;</li> <li>tipologia di anticorpi utilizzati per le analisi leucocitarie;</li> <li>analisi di concordanza nella diagnosi di PNH tra vari centri utilizzanti citometri differenti attraverso il calcolo del coefficiente di variazione.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Per le analisi virtuali (dei file citofluorimetrici) o reali (sui campioni a fresco), i laboratori hanno usato 3 diversi tipi di citometri e 6 software;</li> <li>il 96% dei laboratori ha utilizzato più di 4 anticorpi per le analisi leucocitarie;</li> <li>nei casi virtuali, il 27% ha riportato una PNH falsamente positiva creata da granulociti immaturi, mentre il clone PNH minore non è stato rilevato dal 9% dei laboratori. Nelle analisi sui campioni a fresco, tutti i laboratori hanno rilevato il clone PNH maggiore, ma il 16% ha restituito risultati falsi positivi per il campione di sangue prelevato da soggetto sano.</li> </ul>	L'utilizzo dei casi virtuali potrebbe avere una valenza educativa.
5	Timeus 2014 <sup>18</sup>	Italia	Studio osservazionale di coorte multicentrico.	85 pazienti in età pediatrica affetti da anemia aplastica (AA); età mediana: 10,7 anni.	Campioni di sangue.	Screening e monitoraggio in un unico laboratorio centralizzato a cui afferiscono campioni ematici da 8 Centri AIEOP.	Percentuale di pazienti con AA acquisita con popolazioni cellulari GPI negative pre e post terapia immunosoppressiva.	In 2 su 85 pazienti, la presenza di popolazioni cellulari GPI negative >10% e segni di emolisi in assenza di emoglobinuria hanno reso possibile la diagnosi di PNH secondaria ad AA acquisita. Lo studio non ha messo in evidenza alcune associazione tra presenza di popolazioni GPI negative alla diagnosi e risposta alla terapia immunosoppressiva.	Nella popolazione pediatrica, il pooling dei dati è utile per ottenere una casistica da studiare.

**Tabella 1.** Caratteristiche degli studi inclusi nella revisione che descrivono in modo implicito attività di network che coinvolgono centri di laboratorio.  
**Table 1.** Characteristics of the studies included in the review which implicitly described networking activities including laboratories.

ID	REFERENZA	PAESE	DISEGNO DI STUDIO	POPOLAZIONE DELLO STUDIO	UNITÀ DI ANALISI	ATTIVITÀ E ATTORI COINVOLTI NEL NETWORK	OUTCOME	RISULTATI DELLO STUDIO	IMPATTO DELLO STUDIO
6	Agno 201423	Italia	Studio osservazionale trasversale multicentrico.	202 pazienti con diagnosi di trombosi della vena splancica (TVS); età media: 54,6 anni; maschi 54,8%.	Campioni di sangue.	Screening in un unico laboratorio centralizzato a cui afferiscono CHI? per valutare la presenza di cloni PNH piccoli (citometria) e molto piccoli (metodica ad alta sensibilità).	Presenza di cloni PNH in pazienti con TVS.	Tra i 202 pazienti affetti da TVS, nessuno aveva cloni PNH dimostrabili, mentre la presenza di cloni PNH molto piccoli è stata confermata in sol 2 pazienti.	Nei pazienti affetti da TVS non vi sono dati sufficienti a giustificare lo screening.
7	Fletcher 201424	Inghilterra, Canada, Stati Uniti	Studio multicentrico di laboratorio.	Campioni di sangue con diversa titolazione di cloni PNH (variabile tra 0% e 8%).	Screening in 19 laboratori internazionali di riferimento e in 156 laboratori partecipanti al programma del Regno Unito NEQAS LI PNH hanno poi ripetuto le analisi utilizzando i loro metodi di routine.	Presenza di cloni PNH confrontando due differenti metodiche diagnostiche.	I laboratori di riferimento hanno identificato i cloni PNH in modo simile utilizzando sia i propri protocolli interni sia quelli standard, sebbene una maggiore variabilità è stata messa in evidenza quando venivano utilizzati i protocolli interni. I restanti laboratori partecipanti al programma hanno dimostrato minore capacità di identificazione dei cloni PNH rispetto ai 19 laboratori di riferimento.	Seguire protocolli standardizzati risulta importante sia per i centri di riferimento (per migliorare la loro precisione) sia, ancor di più, per i laboratori che non hanno alcuna esperienza con la PNH.	
8	Sipol 201514	Russia	Studio osservazionale prospettico multicentrico.	7 pazienti affetti da PNH: 5 donne e 2 uomini; età media: 37 anni.	Campioni di sangue con diversa titolazione di cloni PNH.	Screening e monitoraggio in 6 laboratori regionali indipendenti.	Presenza di cloni PNH confrontando due differenti metodiche diagnostiche.	I test di screening a 4 o a 6 colori hanno mostrato risultati simili. Solo differenze minime nella misurazione della dimensione del clone di follow-up sono state rilevate tra i sei laboratori.	I laboratori sono liberi di scegliere la metodica di screening a seconda della disponibilità di anticorpi monoclonali o fluorocromi.
9	Raza 201417	Stati Uniti	Studio multicentrico prospettico.	5.398 pazienti affetti da sindromi mielodisplastiche (SMD) in assenza di diagnosi di PNH.	Campioni di sangue.	Screening in un unico laboratorio centralizzato a cui afferiscono campioni da più di 1.200 centri negli Stati Uniti.	<ul style="list-style-type: none"> <li>PNH non diagnosticata e numero di cloni PNH in pazienti con differenti sindromi mielodisplastiche;</li> <li>associazione tra emolisi e numero di cloni PNH.</li> </ul>	Lo screening ad alta sensibilità ha rilevato cloni PNH $\geq 0,01\%$ in 167 pazienti su 1.746 di tutti i gruppi (9,6%) e in 22 pazienti su 1.225 con SMD (1,8%), 116 pazienti su 294 con AA (39,5%) e 4 pazienti su 54 altri BMF (7,8%). Tra i pazienti con cloni PNH $\geq 1\%$ , la percentuale di pazienti con livelli di lattato deidrogenasi (marcatore per emolisi intravascolare) $\geq 1,5 \times$ limite superiore della norma era più piccolo nei pazienti con AA (18,3%) rispetto a quelli con SMD (42,0%).	Lo screening con citometria ad alta sensibilità potrebbe essere utile nell'identificazione della PNH nei pazienti ad alto rischio.
10	Marinov 201328	Repubblica Ceca, Slovacchia, Stati Uniti (Maine)	Studio multicentrico di laboratorio.	Un paziente affetto da PNH.	Campioni di sangue allestiti con diversa titolazione di cloni PNH.	Screening in 4 centri periferici e un centro di riferimento.	Diagnosi di PNH in campioni a differente numero di cloni PNH confrontando due differenti metodiche diagnostiche.	I risultati dimostrano ottime caratteristiche di performance intra e interlaboratorio per analisi di precisione e riproducibilità e un'eccellente correlazione e accordo tra i centri per tutte le dimensioni dei cloni PNH target.	Lo screening con citometria ad alta sensibilità condotto secondo le linee guida è affidabile e robusto.

**Tabella 1.** Caratteristiche degli studi inclusi nella revisione in modo implicito attività di network che coinvolgono centri di laboratorio. **Table 1.** Characteristics of the studies included in the review which implicitly described networking activities including laboratories.

ID	REFERENZA	PAESE	DISEGNO DI STUDIO	POPOLAZIONE DELLO STUDIO	UNITÀ DI ANALISI	ATTIVITÀ COINVOLTE NEL NETWORK	OUTCOME	RISULTATI DELLO STUDIO	IMPATTO DELLO STUDIO
1	Villegas 2017 <sup>36</sup>	Spagna	Studio osservazionale retrospettivo su dati del Registro spagnolo, multicentrico.	27 pazienti affetti da PNH classica e che hanno sviluppato insufficienza renale, acuta o cronica; età media: 48,5 (±16,2) anni.	Dati clinici.	Monitoraggio in corso di trattamento farmacologico.	Prevalenza di insufficienza renale acuta (IRA) e cronica (IRC) in pazienti con PNH in trattamento con eculizumab e caratterizzazione delle sottopopolazioni identificate.	È risultato che il trattamento con eculizumab ha effetti benefici sulla funzione renale, sulla prevenzione di episodi di IRA e sulla progressione di IRC.	Il trattamento con eculizumab può essere utile nel controllare la progressione dell'insufficienza renale nei pazienti con PNH.
2	Yenerel 2017 <sup>32</sup>	Turchia, Paesi Bassi, Stati Uniti, Australia	Studio osservazionale prospettico, multicentrico.	2.386 pazienti affetti da PNH distinti in due gruppi: ematici (1.012) e non emolitici (1.565); popolazione adulta.	Dati clinici.	Monitoraggio dei dati clinici.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Caratterizzazione della coorte PNH (variabili demografiche e valori laboratoristici) in considerazione della presenza o meno di emolisi;</li> <li>• tasso di eventi trombotici e mortalità;</li> <li>• prevalenza di sintomatologia clinica (dolore addominale, dispnea, affaticamento, disfia e disfunzione erettile).</li> </ul>	Gli eventi trombotici e la mortalità sono risultati più bassi nel gruppo PNH non emolitico rispetto al gruppo emolitico (eventi trombotici: 0,01 vs. 0,03 eventi-persona/anno; tasso di mortalità: 0,1% vs. 1,8%)	Nei pazienti PNH, l'emolisi rappresenta un fattore di rischio per gli eventi trombotici e la mortalità.
3	Mercuri 2017 <sup>19</sup>	Italia	Studio osservazionale retrospettivo, multicentrico.	16 pazienti con diagnosi di PNH fatta nell'infanzia o nell'adolescenza.	Dati clinici.	Monitoraggio dei dati clinici nei centri afferenti all'associazione AEIOP.	Caratterizzazione della coorte PNH considerando variabili demografiche, esordio e durata di malattia, valori laboratoristici, sintomi e trattamento terapeutico stratificando per la presenza o meno di sindrome mielodisplastica.	Lo studio ha rivelato che la forma di PNH più frequente nell'età pediatrica-adolescenziale è la PNH associata a sindrome mielodisplastica. Il ritardo tra l'insorgenza dei sintomi e la diagnosi di PNH è rilevante principalmente nella forma classica. Inoltre, lo studio ha mostrato che ogni caso di trombosi inaspettata rappresenta un criterio per eseguire uno screening PNH. L'esperienza con eculizumab è molto limitata, ma i risultati preliminari dimostrano che il trattamento è efficace nei bambini e negli adolescenti ai pari che negli adulti.	Lo screening PNH dovrebbe essere intrapreso nella popolazione pediatrica in caso di episodi di emolisi associati a iperbilirubinemia e anemia.
4	Chou 2016 <sup>30</sup>	Taiwan	Studio osservazionale prospettico, multicentrico.	63 pazienti, età sia adulta sia pediatrica, reclutati tra il 2009 e il 2015 a Taiwan confrontati con i 3.857 pazienti nel resto del mondo.	Dati clinici.	Monitoraggio dei dati clinici del registro PNH di Taiwan.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Comparazione tra la popolazione di pazienti PNH in Taiwan e nel resto del mondo, considerando le seguenti variabili:</li> <li>• demografiche;</li> <li>• esordio e durata di malattia;</li> <li>• percentuale granulociti GPI negativi;</li> <li>• laboratoristiche;</li> <li>• prevalenza di comorbidità;</li> <li>• trattamento con eculizumab.</li> </ul>	È risultato che i pazienti del Taiwan hanno le stesse caratteristiche dei pazienti del resto del mondo, eccetto che per un livello maggiore di LDH e un livello minore di emoglobina. Inoltre, è stata messa in evidenza una più alta frequenza di sintomi, tra cui mancanza di respiro e disfunzione erettile al momento della diagnosi.	La presentazione della malattia sembra variare con la localizzazione geografica.
5	Jang 2016 <sup>34</sup>	Korea	Studio osservazionale retrospettivo su dati del Registro coreano, multicentrico.	301 pazienti coreani affetti da PNH che non fatto terapia con eculizumab.	Dati clinici.	Monitoraggio dei dati clinici presenti nel registro PNH coreano.	Tasso di mortalità.	I pazienti affetti da PNH con emolisi, lattato deidrogenasi LDH $\geq 1,5$ (limite superiore della norma, ULN) hanno un tasso di mortalità maggiore di 4,8 volte rispetto alla popolazione generale ( $P < 0,001$ ). Tromboembolismo, insufficienza renale e citopenia sono fattori di rischio indipendenti per la mortalità, con tassi di mortalità 14,8 e 6,2 volte maggiori alla popolazione generale. La combinazione di emolisi e uno o più sintomi clinici come dolore addominale, dolore toracico o dispnea, ha portato a un aumento della mortalità molto maggiore rispetto ai pazienti con il solo sintomo o semplicemente emolisi.	L'identificazione precoce dei fattori di rischio legati alla mortalità è cruciale per la gestione della PNH.

**Tabella 2.** Caratteristiche degli studi inclusi nella revisione che descrivono in modo implicito attività di network che raccolgono dati da registri nazionali e/o internazionali.  
**Table 2.** Characteristics of the studies included in the review which implicitly described networking activities collecting data via national and/or international registries.

ID	REFERENZA	PAESE	DISEGNO DI STUDIO	POPOLAZIONE DELLO STUDIO	UNITÀ DI ANALISI	ATTIVITÀ COINVOLTE NEL NETWORK	OUTCOME	RISULTATI DELLO STUDIO	IMPATTO DELLO STUDIO
6	Loschi 2016 <sup>35</sup>	Francia	Studio osservazionale retrospettivo multicentrico.	123 pazienti trattati con eculizumab nel periodo recente (dal 2005 escluso in poi) e 191 controlli storici (dal registro francese).	Dati clinici.	Monitoraggio dei dati clinici del registro PNH francese.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tasso di mortalità;</li> <li>tasso di eventi trombotici;</li> <li>tasso di insorgenza di sindrome mielodisplastica o leucemia mieloide acuta.</li> </ul>	La sopravvivenza globale a 6 anni era del 92% nella coorte dei trattati con eculizumab vs. 80% nei controlli storici. Ci sono stati significativamente meno eventi trombotici (ET) nel gruppo di pazienti trattati con eculizumab (4%) rispetto alla coorte storica (27%). Tuttavia, si è messo in evidenza che gli ET possono ancora manifestarsi dopo l'inizio del trattamento con eculizumab. È stata registrata una minore evoluzione dell'anemia aplastica nel gruppo trattato con eculizumab.	Il trattamento con eculizumab sembra migliorare la sopravvivenza globale nei pazienti affetti da PNH senza aumentare il rischio di evoluzione clonale.
7	Kim 2015 <sup>37</sup>	Corea	Studio osservazionale retrospettivo su dati del Registro sud-coreano, multicentrico.	282 pazienti con PNH: <ul style="list-style-type: none"> <li>* 24 pazienti con anemia aplastica grave (AAG) / PNH grave;</li> <li>* 96 pazienti con anemia plasmatica / aplastica (AA);</li> <li>* 162 pazienti PNH classici.</li> </ul>	Dati clinici.	Monitoraggio dei dati clinici del registro PNH coreano.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Numero di cloni PNH;</li> <li>tasso di incidenza di emolisi elevata;</li> <li>tasso di incidenza di primo evento tromboembolitico;</li> <li>tasso di mortalità.</li> </ul>	L'incidenza del tromboembolismo era simile in entrambi nei pazienti affetti da forma classica ed era simile a quella rispetto ai pazienti con anemia aplastica grave associata a PNH. La sopravvivenza globale era, però, significativamente inferiore nel sottogruppo con AA/ PNH rispetto al sottogruppo PNH classico	La corretta valutazione dello stato ematologico dei pazienti con PNH (soprattutto dei pazienti con AAG) è di fondamentale importanza data la minore sopravvivenza di questi pazienti.
8	Schrezenmeier H. 2014 <sup>31</sup>	Germania, Olanda, Stati Uniti, Francia, Spagna, Inghilterra, Australia	Studio osservazionale retrospettivo su dati di registro internazionale.	1.610 pazienti affetti da PNH, di tutte le età.	Dati clinici.	Monitoraggio dei dati clinici del registro PNH internazionale.	<p>Caratterizzazione della coorte arruolata nel registro PNH internazionale considerando variabili demografiche, esordio e durata e caratteristiche di malattia, valori laboratoristici, episodi trombotici pregressi, sintomi, comorbidità, e trattamento terapeutico.</p> <p>Per un sub-set è stata anche valutata la qualità della vita, attività fisica e sociale, e affaticamento, stratificati per la presenza o meno di episodi trombotici.</p>	Complessivamente, il 16% dei pazienti ha avuto una storia di eventi trombotici e il 14% una storia di funzionalità renale compromessa. Le terapie effettuate includevano anticoagulazione (31%) immunosoppressione (19%) ed eculizumab (25%). I sintomi più frequenti comprendevano affaticamento (80%), dispnea (64%), emoglobinuria (62%), dolore addominale (44%) e dolore al petto (33%). Il 17% dei pazienti ha dichiarato che l'emoglobinuria notturna parossistica era la ragione per cui aveva abbandonato o ridotto l'attività lavorativa.	La PNH determina un peggioramento della qualità della vita.
9	Kulagin 2014 <sup>15</sup>	Russia	Studio osservazionale prospettico multicentrico.	125 pazienti con anemia aplastica reclutati in due centri e trattati con terapia immunosoppressiva (TIS).	Dati clinici.	Monitoraggio presso 2 centri in Russia.	<p>Associazione tra presenza di cloni PNH e:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>risposta a trattamento immunosoppressivo di prima e seconda linea;</li> <li>mortalità.</li> </ol>	Il tasso di risposta alla terapia a 6 mesi era più alto nei pazienti con PNH positiva rispetto a quello nei pazienti con PNH negativa, sia dopo TIS di prima sia di seconda linea: 68% vs. 45%, e 53% vs. 13%, rispettivamente. Inoltre, il 42% dei pazienti con PNH positiva ha raggiunto la remissione completa rispetto a solo il 16% dei pazienti con PNH negativa (P: 0,0029). Nell'analisi di regressione logistica multivariata, la presenza di cloni PNH e di reticolociti assoluti $\geq 30 \times 10^9$ sono risultati predittori indipendenti di risposta al trattamento.	Il clone è predittivo della risposta alla terapia.
10	Lee 2013 <sup>33</sup>	Corea	Studio osservazionale retrospettivo su dati di registro coreano, multicentrico.	301 pazienti reclutati nel registro coreano; età media: 39,3.	Dati clinici.	Monitoraggio dei dati clinici del registro coreano.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Presenza e sito di tromboembolismo;</li> <li>presenza di sintomi clinici di PNH (affaticamento, emoglobinuria, dispnea, dolore toracico).</li> </ul>	Il tromboembolismo è stato associato a un aumentato rischio di mortalità. Un'analisi multivariata ha mostrato che i pazienti con PNH con emolisi elevata alla diagnosi presentavano un rischio significativamente più alto per ET rispetto ai pazienti valori normali. La combinazione di emolisi con i sintomi clinici di dolore addominale, dolore toracico, dispnea o emoglobinuria è risultata associata a un maggiore aumento del rischio di ET rispetto all'emolisi elevata o ai soli sintomi clinici separatamente.	Identificazione di sottogruppi di PNH a più alto rischio.

**Tabella 2.** Caratteristiche degli studi inclusi nella revisione che descrivono in modo implicito attività di network che raccolgono dati da registri nazionali e/o internazionali.  
**Table 2.** Characteristics of the studies included in the review which implicitly described networking activities collecting data via national and/or international registries.

In generale, nell'ambito delle malattie rare, come la ONH, solo i registri di patologia permettono di acquisire un numero di casi così ampio di modo da poter valutare *endpoint* robusti come la mortalità e di testare i fattori associati a una ridotta sopravvivenza. Per esempio, i dati clinici di un registro hanno permesso di identificare la comparsa di eventi tromboembolici nei soggetti affetti da PNH come un fattore prognostico negativo associato a un aumento della mortalità e una riduzione della sopravvivenza;<sup>32-34</sup> o ancora di valutare l'efficacia nella risposta alla terapia farmacologica con eculizumab<sup>35,36</sup> e il valore prognostico dei cloni PNH in corso di terapia immunosoppressiva.<sup>15</sup> L'utilizzo dell'eculizumab non sembra aver cambiato significativamente la prevalenza,<sup>37,38</sup> mentre sicuramente ha migliorato la qualità della vita; tuttavia, l'impatto del farmaco potrebbe cambiare se garantito prontamente a tutti i casi diagnosticati. A eccezione dello studio Loschi,<sup>35</sup> nessuno degli altri studi inclusi valuta l'efficacia; invece, viene descritto l'utilizzo e l'associazione con altri outcome senza inferenza vera e propria. L'evidenza che un solo studio usa un metodo di statistica inferenziale (*propensity score weighting*) per lo studio di efficacia del farmaco è da considerarsi una limitazione metodologica negli studi di efficacia relativi a questa malattia e fa riflettere sull'importanza di integrare un lavoro di intersezione clinico-diagnostico-epidemiologico sui percorsi. Al pari delle altre patologie rare, è stato riscontrato che l'organizzazione in modelli a network dei servizi di diagnostica, cura e presa in carico dei pazienti affetti da PNH ha determinato, per quanto esposto finora, potenzialità di impatto positivo.

Non vi sono risultati evidenti del miglioramento degli outcome di malattia attribuibili ai network. Si può ipotizzare che un'implementazione del processo diagnostico e un'applicazione di quanto riscontrato negli iter di cura futuri (gli studi sui registri hanno portato a creare un profilo del paziente proprio per migliorare la qualità delle cure) potrebbe portare a un miglioramento delle condizioni del paziente affetto da PNH. Nessuno studio, inoltre, ha esplorato aspetti sociali o d'integrazione sociosanitaria.

## CONCLUSIONI

Questa *review* descrive lo stato dell'arte dell'applicazione dei modelli a network nella diagnosi, terapia e monitoraggio della PNH. I network sembrano essere applicati soprattutto per potenziare la fase diagnostica della malattia che, oltre all'identificazione esperta dei casi, oggi si pone l'obiettivo più ambizioso di intercettare i casi sommersi in territori inesplorati realizzando quanto si definisce un efficace arricchimento diagnostico; per questo scopo, il modello organizzativo dei network regionali prevede un contributo partecipativo dei laboratori che utilizzano il test diagnostico quale *knowledge broker*, cioè come strumento capace di superare le barriere istituzionali e favorire la ricerca dei casi.

Minore è, invece, il ricorso all'integrazione dei dati clinici nei registri PNH che permettono di valutare indicatori più robusti, come mortalità o sopravvivenza, in relazione ai vari fattori di rischio.

Rispetto a quanto teorizzato, anche dal punto di vista legislativo, il modello di network deve essere ancora integrato nella visione e presa in carico della malattia.

La PNH, come le altre malattie rare, espone coloro che ne sono affetti ad alto rischio di emarginazione sociale, ad affrontare impegni di spesa a fronte di una perdita dell'abilità lavorativa, nonché a un forte stress psicologico anche a carico dei parenti che spesso fungono da *caregiver*. Questi temi, insieme a una maggiore integrazione degli aspetti epidemiologici nei percorsi clinico-diagnostici, dovrebbero essere inseriti nell'agenda dei programmatori sanitari.

**Conflitti di interesse dichiarati:** nessuno.

## BIBLIOGRAFIA

- Hill A, DeZern AE, Kinoshita T, Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17028.
- Takeda J, Miyata T, Kawagoe K, et al. Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cell* 1993;73(4):703-11.
- 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(5):637-41.
- Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2014;124(18):2804-11.
- Risitano AM. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and other complement-mediated hematological disorders. *Immunobiology* 2012;217(11):1080-87.
- Hill A, Platts PJ, Smith A et al. The Incidence and Prevalence of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH) and Survival of Patients in Yorkshire. *Blood* 2006;108(11):985.
- Moyo VM, Mukhina GL, Garrett ES, Brodsky RA. Natural history of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria using modern diagnostic assays. *Br J Haematol* 2004;126(1):133-38.
- Marti-Carvajal AJ, Anand V, Cardona AF, Sola I. Eculizumab for treating patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cochrane Database Syst Rev* 2014(10):CD010340.
- Borowitz MJ, Craig FE, Digiuseppe JA et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2010;78(4):211-30.
- Sutherland DR, Keeney M, Illingworth A. Practical guidelines for the high-sensitivity detection and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2012;82(4):195-208.
- Mancuso S, Sucato G, Carlisi M et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: When delay in diagnosis and long therapy occurs. *Hematol Rep* 2018;10(1):7523.
- Levac D, Colquhoun H, O'Brien KK. Scoping studies: advancing the methodology. *Implement Sci* 2010;5:69.
- Arksey H, O'Malley L. Scoping studies: towards a methodological framework. *Int J Soc Res Methodol* 2005;8(1):19-32.
- Sipol AA, Babenko EV, Borisov VI et al. An inter-laboratory comparison of PNH clone detection by high-sensitivity flow cytometry in a Russian cohort. *Hematology* 2015;20(1):31-38.
- Kulagin A, Lisukov I, Ivanova M et al. Prognostic value of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clone presence in aplastic anaemia patients treated with combined immunosuppression: results of two-centre prospective study. *Br J Haematol* 2014;164(4):546-54.
- Morado M, Freire Sandes A, Colado E, et al. Diagnostic screening of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: Prospective multicentric evaluation of the current medical indications. *Cytometry B Clin Cytom* 2017;92(5):361-70.
- Raza A, Ravandi F, Rastogi A et al. A prospective multicenter study of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells in patients with bone marrow failure. *Cytometry B Clin Cytom* 2014;86(3):175-82.
- Timeus F, Crescenzo N, Longoni D et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in children with acquired aplastic anemia: a multicentre study. *PLoS one* 2014;9(7):e101948.
- Mercuri A, Farruggia P, Timeus F et al. A retrospective study of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in pediatric and adolescent patients. *Blood Cells Mol Dis* 2017;64:45-50.
- Cada M, Segbefia CI, Klaassen R et al. The impact of category, cytopathology and cytogenetics on development and progression of clonal and malignant myeloid transformation in inherited bone marrow failure syndromes. *Haematologica* 2015;100(5):633-42.
- Fletcher M, Whitby L, Whitby A, Barnett D. Current international flow cytometric practices for the detection and monitoring of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clones: A UK NEQAS survey. *Cytometry B Clin Cytom* 2017;92(4):266-74.
- Debliquis A, Wagner-Ballon O, Le Garff-Tavernier M et al. Evaluation of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria screening by flow cytometry through multicentric interlaboratory comparison in four countries. *Am J Clin Pathol* 2015;144(6):858-68.
- Ageno W, Dentali F, De Stefano V et al. Clonal populations of hematopoietic cells with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria phenotype in patients with splanchnic vein thrombosis. *Thromb Res* 2014;133(6):1052-55.
- Fletcher M, Sutherland DR, Whitby L et al. Standardizing leucocyte PNH clone detection: an international study. *Cytometry B Clin Cytom* 2014;86(5):311-18.
- Gatti A, Del Vecchio L, Geuna M, Della Porta MG, Brando B. Multicenter validation of a simplified method for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria screening. *Eur J Haematol* 2017;99(1):27-35.
- Hosokawa K, Kajigaya S, Keyvanfar K et al. T Cell Transcriptomes from Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Patients Reveal Novel Signaling Pathways. *J Immunol* 2017;199(2):477-88.
- Olsen AK, Dertinger SD, Kruger CT et al. The Pig-a Gene Mutation Assay in Mice and Human Cells: A Review. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2017;121 Suppl 3:78-92.
- Marinov I, Kohoutova M, Tkacova V et al. Intra- and interlaboratory variability of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria testing by flow cytometry following the 2012 Practical Guidelines for high-sensitivity paroxysmal nocturnal hemoglobinuria testing. *Cytometry B Clin Cytom* 2013;84(4):229-36.
- Raia M, Graziano D, Palmieri S. Una rete collaborativa per la diagnosi dell'emoglobinuria parossistica notturna [EPN]: risultati dello studio Rap-Care. *Acta of National Cytometry conference* 2015.
- Chou WC, Huang WH, Wang MC et al. Characteristics of Taiwanese patients of PNH in the international PNH registry. *Thromb J* 2016;14 Suppl 1:39.
- Schrezenmeier H, Muus P, Socie G et al. Baseline characteristics and disease burden in patients in the International Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Registry. *Haematologica* 2014;99(5):922-29.
- Yenerel MN, Muus P, Wilson A, Szer J. Clinical course and disease burden in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria by hemolytic status. *Blood Cells Mol Dis* 2017;65:29-34.
- Lee JW, Jang JH, Kim JS, et al. Clinical signs and symptoms associated with increased risk for thrombosis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria from a Korean Registry. *Int J Hematol* 2013;97(6):749-57.
- Jang JH, Kim JS, Yoon SS et al. Predictive Factors of Mortality in Population of Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH): Results from a Korean PNH Registry. *J Korean Med Sci* 2016;31(2):214-21.
- Loschi M, Porcher R, Barraco F et al. Impact of eculizumab treatment on paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a treatment versus no-treatment study. *Am J Hematol* 2016;91(4):366-70.
- Villegas A, Nunez R, Gaya A et al. Presence of acute and chronic renal failure in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: results of a retrospective analysis from the Spanish PNH Registry. *Ann Hematol* 2017;96(10):1727-33.
- Marti-Carvajal AJ, Anand V, Cardona AF, Solà I. Eculizumab for treating patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;(10):CD010340.
- Kim JS, Jang JH, Yoon SS, et al. Distinct subgroups of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) with cytopenia: results from South Korean National PNH Registry. *Ann Hematol* 2016;95(1):125-33.