

Revisão de Literatura

## A atuação dos linfócitos na patogênese da Hemoglobinúria Paroxística Noturna

Gabriel Rocha de Andrade<sup>1</sup>

### Resumo

A Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN) é uma doença causada por mutação no gene *PIG-A* das células-tronco hematopoiéticas (CTH), no qual resulta na deficiência de inibidores do complemento ativado. A mutação no gene *PIG-A* gera a falta do produto gênico necessário para a biossíntese de âncora de glicosilfosfatidilinositol (GPI), sendo assim essa mutação provoca uma deficiência de proteínas ancoradas em GPI, como o fator acelerador de decaimento do complemento (CD55) e a glicoproteína CD59 (CD59), sendo ambos inibidores do complemento, gerando anemia hemolítica, formação de trombos e falência medular. A HPN foi dividida em três classes: HPN clássica; HPN no contexto de outros distúrbios primários da medula óssea; e HPN subclínica, em que os pacientes apresentam baixas proporções de clones de células na HPN. As principais mutações *PIG-A* devem ocorrer em uma célula-tronco hematopoiética autorrenovável e devem atingir dominância clonal. Esses mecanismos que levam à expansão clonal e à dominância das células-tronco ainda não foram totalmente esclarecidos. No entanto, existe a hipótese de que as CTH que expressam proteínas ancoradas em GPI são seletivamente mortas por linfócitos citotóxicos autorreativos, enquanto CTH deficientes em proteínas ancoradas em GPI são poupados da resposta autoimune. Sendo assim, os linfócitos T podem estar envolvidos na patogênese da HPN e podem fornecer novas estratégias no tratamento, retardando o ataque dos linfócitos T às CTH sem mutação do gene *PIG-A* e melhorar a qualidade de vida de pacientes.

**Palavras-chave:** hemoglobinúria paroxística noturna; gene *PIG-A*; glicosilfosfatidilinositol (GPI); células-tronco hematopoiética;

### Hemoglobinúria Paroxística Noturna

A Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN) é uma anemia hemolítica crônica adquirida rara, de curso clínico variável. Apresenta-se frequentemente com infecções recorrentes, neutropenia e trombocitopenia, e surge em associação com outras doenças hematológicas, especialmente com síndromes de insuficiência medular, como anemia aplásica e síndromes mielodisplásicas<sup>1</sup>.

A HPN é uma doença causada por mutação no gene *PIG-A* das células-tronco hematopoiéticas (CTH), no qual resulta na deficiência de inibidores do complemento ativado, acarretando em hemólise, formação de trombos intravasculares devido à ativação do sistema de coagulação e diferentes graus de falência da medula óssea. A mutação somática no gene *PIG-A* causa a falta do produto gênico necessário para a biossíntese de âncora de glicosilfosfatidilinositol (GPI), sendo assim essa mutação provoca uma deficiência de proteínas ancoradas em GPI, como o fator acelerador de decaimento do complemento (CD55) e a glicoproteína CD59 (CD59), que são ambos inibidores do complemento<sup>2</sup>.

Além disso, indivíduos com HPN possuem células sanguíneas clonais com expressão superficial defeituosa de várias outras proteínas ancoradas em GPI.

<sup>1</sup>Aluno do Programa de Pós-Graduação Lato Sensu em Hematologia Clínica e Laboratorial (AC&T)

**Correspondência:** MSc Gabriel Rocha de Andrade, Laboratório Clínico da Unidade de Pronto Atendimento do Instituto de Estratégia e Gestão em Saúde - DF-075, Km 180, Área Especial, EPNB, Brasília - DF, 71705-510

Essas proteínas incluem o antígeno de diferenciação de monócitos CD14 (CD14), o receptor III-B da região Fc da imunoglobulina de baixa afinidade (CD16b), o antígeno CD48, entre outros. O estudo de linhagens de células linfoblastóides B e linfoblastóides T estabelecidas a partir de pacientes com HPN mostrou que a biossíntese de GPI estava prejudicada também nessas células<sup>3</sup>.

### Fisiopatologia

A fisiopatologia da HPN, como dito anteriormente, inicia-se devido a deficiência grave ou ausência da proteína ancoradora GPI. Esse complexo glicolipídico é ancorado por mais de 150 proteínas diferentes à superfície das células. Isso resulta na falta de proteínas inibitórias do complemento CD55 e CD59, o que leva a uma hemólise de eritrócitos deficientes em GPI, bem como ativação plaquetária, de monócitos e granulócitos. Nas células hematopoiéticas, existem mais de 12 proteínas ancoradas por GPI (GPI-PAs), incluindo antígenos de grupos sanguíneos, moléculas de adsorção e proteínas reguladoras do complemento<sup>4</sup>.

Especificamente, a CD59 é uma proteína de 19 KDa responsável pela interação direta com o complexo de ataque a membrana (CAM) prevenindo a formação de poros líticos, bloqueando assim a agregação de C9. A glicoproteína CD55 de 68 KDa e tem como função acelerar a taxa de conversão C3 convertase acoplada à superfície da membrana celular. Dessa forma, a CD55 induz uma redução na quantidade de C3 e o CD59 diminui a quantidade de CAM formado<sup>3,4</sup>.

Esse mecanismo é conhecido como tick-over e tem início com a elevação da atividade das C3 convertases na superfície dos eritrócitos, como resposta da ausência de CD55. Por consequência disso, há ativação de C3, C5 e da via terminal do complemento culminando na formação do CAM. Em circunstâncias regulares, a formação do CAM é regulada pelo CD59. Em sua ausência, o CAM é formado de maneira descontrolada resultando em hemólise intravascular mediada pelo complemento<sup>5</sup>.

A hemólise extravascular na HPN começa com o aumento da opsonização dos eritrócitos por fragmentos do complemento (principalmente C3d). Este resultado é ocasionado pela falta de CD55. Onde os eritrócitos opsonizados são eliminados e destruídos pelas células do sistema retículo-endotelial<sup>5,14</sup>.

### Manifestações Clínicas

#### Anemia

A anemia na HPN é muitas vezes multifatorial e pode resultar de uma combinação de hemólise e insuficiência da medula óssea. A hemólise intravascular está associada com anemia moderada a grave, contagem de reticulócitos aumentada, volume corpuscular médio (VCM) normal a elevado e um nível acentuado da lactato desidrogenase (LDH) são comuns na HPN hemolítica. Na anemia aplástica-HPN, a anemia se deve principalmente à insuficiência da medula óssea, apresentando medula óssea hipocelular, trombocitopenia mais grave, um pequeno percentual de granulócitos, contagens de reticulócitos baixo e discreto aumento ou nenhum nos níveis de LDH. A trombose pode ocorrer na anemia aplástica-HPN, mas é menos frequente do que em pacientes com HPN hemolítica<sup>6</sup>.

#### Trombose

A trombose é a causa mais comum de mortalidade na HPN, representando 50% dos óbitos, a trombose venosa tende a ser mais comum do que a trombose arterial. A trombose da veia hepática (síndrome de Budd-Chiari) é a ocorrência mais comum; outros locais frequentemente afetados pela trombose incluem as veias abdominais e cerebrais<sup>7,8</sup>.

A trombofilia na HPN é multifatorial. A ausência de proteínas reguladoras do complemento ancoradas em GPI (CD55 e CD59) nas plaquetas HPN leva a micropartículas pró-trombóticas. Altos níveis de hemoglobina livre levam à eliminação de óxido nítrico (NO), que tem sido implicado em contribuir para a ativação e agregação plaquetária. A ativação do complemento contribui nos processos pró-inflamatórios e pró-trombóticos, gerando citocinas inflamatórias como interleucina-6, interleucina-8 e fator de necrose tumoral- $\alpha$ <sup>7</sup>.

#### Distonia do músculo liso

Dor abdominal, dor nas costas, espasmo esofágico, disfagia (dificuldade de deglutição) e disfunção erétil são manifestações comuns associadas à HPN hemolítica e muitas vezes são consequência direta da hemólise intravascular e da liberação de hemoglobina livre. Esses mecanismos de depuração estão sobrecarregados no cenário de hemólise intravascular e, conseqüentemente, os níveis de hemoglobina livre no plasma aumentam<sup>1</sup>.

A hemoglobina livre sequestra o óxido nítrico, que é sintetizado pelas células endoteliais, mantém o relaxamento do músculo liso e inibe a ativação e agregação plaquetária. Dessa forma, a deficiência de óxido nítrico nos tecidos contribui para a desregulação do tônus do músculo liso e ativação plaquetária<sup>3</sup>.

### Outras manifestações na HPN

A fadiga incapacitante é uma característica comum da HPN e pode ser desproporcional ao grau de anemia. A fadiga geralmente é mais intensa durante um ataque hemolítico, mas geralmente está presente o tempo todo. Episódios de icterícia e hemoglobinúria também foram regularmente relatados. Pacientes com HPN têm alto risco de desenvolver doença renal crônica como resultado de hemólise intravascular de longo prazo. O dano tubular renal pode ocorrer por trombose microvascular, acúmulo de depósitos de ferro ou ambos. Hipertensão pulmonar leve a moderada também foi relatada, e juntamente com função ventricular direita reduzida causada por microtrombos subclínicos ou eliminação de óxido nítrico associada à hemólise também podem gerar quadros de dispnéia<sup>1,3</sup>.

### Classificação e Diagnóstico

A HPN tem apresentações clínicas variadas, incluindo anemia hemolítica com Coombs-negativa, pancitopenia, dor abdominal inexplicável, hemoglobinúria e trombose. A HPN pode manifestar-se ou evoluir de anemia aplástica adquirida<sup>3</sup>.

A HPN é classificada em três categorias: HPN clássica (na qual os pacientes apresentam manifestações clínicas de hemólise ou trombose); HPN no contexto de outros distúrbios primários da medula óssea (como anemia aplástica ou síndromes mielodisplásicas); e HPN subclínica, em que os pacientes apresentam baixas proporções de clones de células na HPN, mas sem evidência clínica ou laboratorial de hemólise ou trombose<sup>2,3</sup>.

A HPN hemolítica (ou clássica), anemia aplástica-HPN e HPN intermediária. Pacientes com HPN hemolítica tendem a ter contagens de neutrófilos e plaquetas quase fisiológicas, níveis de lactato desidrogenase de mais de duas vezes o limite fisiológico superior (que aponta para hemólise intravascular), medula óssea normocelular, aumento de reticulócitos contagem e uma população relativamente grande de granulócitos<sup>3,6</sup>.

Pacientes com anemia aplástica-HPN apresentam pancitopenia grave, tendem a ter uma medula óssea hipocelular, uma contagem de reticulócitos relativamente baixa e uma porcentagem menor de granulócitos<sup>8</sup>.

Os exames laboratoriais que devem ser solicitados se houver suspeita de HPN (por exemplo, se o paciente apresentar hemoglobinúria) incluem hemograma completo com diferencial, contagem de reticulócitos, esfregaço de sangue periférico e ensaio de lactato desidrogenase. O diagnóstico clínico de HPN deve ser confirmado com citometria de fluxo sanguíneo periférico para determinar a ausência ou deficiência grave de proteínas ancoradas a GPI em pelo menos duas ou mais linhagens de células sanguíneas<sup>9</sup>.

As proteínas ancoradas a GPI podem ser detectadas após a marcação das células com anticorpos monoclonais (por exemplo, anti-CD55 ou anti-CD59) ou um reagente conhecido como proaerolisina marcada com fluoresceína (FLAER), que se liga à porção de glicano na âncora GPI. A citometria de fluxo deve ser solicitada para pacientes com anemia hemolítica Coombs-negativo, pacientes com anemia aplástica ou pancitopenia e trombose inexplicada que tenham outras evidências clínicas ou laboratoriais de HPN. Essas mutações *PIG-A* geralmente surgem de células formadoras de colônias, em vez de células tronco hematopoiéticas, e não são clinicamente ou diagnosticamente significativas<sup>10,11</sup>.

A biópsia da medula óssea não é necessária para o diagnóstico de HPN, mas deve ser realizada em pacientes com pancitopenia grave. Em pacientes com HPN hemolítica, a medula óssea é frequentemente normocelular a hipercelular com hiperplasia eritróide<sup>8,9</sup>.

### Mutações genéticas

#### Mutações *PIG-A*

Mutações somáticas de *PIG-A* em pacientes com HPN são múltiplas. A maioria são inserções ou deleções envolvendo uma única base ou várias bases e substituições de uma única base. Deleções de todo o gene ou de uma grande parte do gene são raras. Deleções de base única e substituições de base única representam aproximadamente um terço das mutações conhecidas e o terço restante compreende inserções de base única, deleções de base e combinações de deleções<sup>11</sup>.

A biossíntese de GPI é um processo pós-traducional que ocorre no retículo endoplasmático. Portanto, é necessário mais de 10 etapas e aproximadamente 26 produtos gênicos. O gene *PIG-A* produz uma das sete proteínas que estão envolvidas no primeiro estágio da biossíntese de GPI. Qualquer mutação no gene pode teoricamente causar HPN; entretanto, o gene *PIG-A* era o único encontrado mutado em pacientes com HPN. Isso ocorre porque o *PIG-A* é encontrado no cromossomo X; como resultado, uma única mutação somática em uma célula-tronco hematopoiética é suficiente para produzir um fenótipo da HPN. Os demais genes identificados pela via biossintética GPI são autossomos; como consequência, duas mutações interrompem a função dessa proteína ancoradora<sup>12</sup>.

O gene *PIG-A* de 16 Kb de comprimento está localizado em Xp22.1; codifica uma proteína que contém 484 aminoácidos (60 kDa). Um pseudogene sem intron foi encontrado no cromossomo 12q21. Numerosas mutações somáticas em toda a região de codificação do *PIG-A* têm sido descritos em pacientes com HPN. A maioria das mutações de *PIG-A* são pequenas inserções ou deleções, geralmente de 1 ou 2 pb, que resultam em uma mudança de quadro na região de codificação e, conseqüentemente, um produto não funcional encurtado<sup>1,8</sup>.

### Células-tronco na HPN

Para causar HPN, as mutações *PIG-A* devem ocorrer em uma célula-tronco hematopoiética autorrenovável e devem atingir dominância clonal. Esses mecanismos que levam à expansão clonal e à dominância das células-tronco continuam sendo focos de investigação. Qualquer hipótese culmina na estreita relação fisiopatológica entre a HPN e a anemia aplástica adquirida, uma doença autoimune mediada por células T caracterizada pela depleção de células-tronco hematopoiéticas<sup>6</sup>.

Uma hipótese é que as CTH que expressam proteínas ancoradas em GPI são seletivamente mortas por linfócitos citotóxicos autorreativos, enquanto CTH deficientes em proteínas ancoradas em GPI são poupados. De fato, as células HPN raramente são vistas em formas hereditárias de falência medular, nas quais os linfócitos citotóxicos autorreativos não são funcionais<sup>1,6</sup>.

Outra hipótese é que os glicolipídeos da GPI sejam reconhecidos por uma classe de células T CD8 + citotóxicas que também expressam marcadores celulares tipicamente encontrados em células natural killer (NK). Essas células T

em particular podem ser observadas tanto em indivíduos saudáveis quanto em pacientes com HPN. Em pacientes com HPN, essas células T reagem com complexos de GPI e glicoproteína apresentadora de antígeno CD1d<sup>6,16</sup>.

### Outras mutações que desencadeiam a HPN

A deficiência de CD59 é a causa mais comum de manifestações clínicas na HPN. Como resultado, casos raros de mutações hereditárias que resultam em perda de CD59 na superfície celular foram documentadas. O fenótipo desses pacientes imita ao da HPN, a presença de hemólise intravascular com hemólise paroxística e propensão para trombose. Em contraste com os pacientes com HPN, aqueles com deficiência hereditária de CD59 também apresentam neuropatia recorrente na periferia. A ausência de CD59 é encontrada apenas nas células sanguíneas na HPN clássica; entretanto, em pacientes com mutações de CD59 na linhagem germinativa, todas as células do corpo são deficientes em CD59<sup>15</sup>.

### Atuação dos linfócitos T na HPN

Diversos estudos foram realizados afim de avaliar o papel dos linfócitos na HPN. Inicialmente, um mecanismo hipotético para a expansão clonal de células GPI(-) na HPN é que as células mutantes escapam ao ataque de células citotóxicas autorreativas que acredita-se serem responsáveis pela anemia aplástica, um ataque autoimune mediado por células T danifica as células-tronco hematopoiéticas. O alvo das células T auto-reativas pode ser a molécula de glicosilfosfatidilinositol (GPI) ou outra molécula expressa em CTH. Uma mutação inativadora do gene *PIG-A* produz um clone hematopoiético GPI-negativo. Na ausência do clone mutante *PIG-A*, o ataque autoimune, mesmo que na molécula de GPI seja direcionado, produz anemia aplástica. Na ausência do ataque autoimune, um clone mutante *PIG-A* não terá conseqüências<sup>17</sup>.

A hipótese de que na patogênese da HPN, os linfócitos T autoimunes atacam as células tronco hematopoiéticas GPI (+) através da moléculas GPI, enquanto as células GPI (-) podem escapar e sobreviver. A CD1d é um tipo de molécula do MHC que apresenta açúcare/glicolipídeos que podem induzir respostas imunes de células T; está envolvido na patogênese de uma variedade de doenças. Foi descrito que CD1d pode apresentar moléculas âncoras de GPI. Sendo assim, Karadimitris hipotetizou que o CD1d apresentaria a molécula GPI como antígeno para os linfócitos T e então os ativaria. Essas células T matam as células-alvo que

expressam a molécula GPI; no entanto, as células tronco hemtopoiética na HPN, que não possui moléculas de GPI, pode escapar desse ataque<sup>18</sup>.

Existem pelo menos duas vias na ativação de células T através de CD59, resultando na produção de IL-2; isso sugere que o GPI-AP atua como coestimulador e medeia a citotoxicidade dos linfócitos T. Anticorpos monoclonais, anti-CD, CD2, CD3, CD58 e CD59 foram usados para bloquear o efeito citotóxico, e os resultados mostraram que todos os anticorpos bloqueiam o efeito citotóxico no mesmo grau, indicando que o CD59 na superfície de LCL, opera como um tipo de GPI-APs, requerido pelos linfócitos T para produzir um efeito citotóxico nas células alvo. O CD4+ e LTC produz citotoxicidade principalmente através da via Fas/FasL. A expressão de Fas em células CD59+ é significativamente maior do que em células CD59-. A via Fas/FasL é uma das vias do receptor de membrana apoptótica. Não é difícil especular que os linfócitos T exerceram efeitos citotóxicos através da molécula GPI-AP pela via Fas/FasL, e as células CD59+ exibiram mais apoptose, enquanto as células CD59- poderiam escapar desse efeito citotóxico<sup>19</sup>.

De acordo com os resultados dos presentes estudos, a mutação do gene *PIG-A* é amplamente considerada como uma das patogêneses da HPN, mas existem pelo menos 20 genes envolvidos na biossíntese de GPI além do *PIG-A*, e alterações genéticas adicionais ocorrendo em CTH mutantes *PIG-A* poderia dar a estes clones uma vantagem de crescimento benigno. A mutação do gene *PIG-A* por si só não pode explicar a vantagem de sobrevivência dos clones na HPN, e não é a única diferença entre o clone HPN e o clone não-PNH. Alguns pesquisadores acreditam que é a imunidade de linfócitos T anormais que pode estar envolvida na patogênese da HPN<sup>20</sup>.

## Conclusão

A ocorrência de HPN deve-se ao escape do GPI - do ataque autoimune mediado por células T em comparação ao GPI + das células tronco hematopoiéticas, que é conhecido como hipótese de escape imune. A terapia imunossupressora para linfócitos T é eficaz em alguns pacientes com HPN. No entanto, os pacientes com HPN são raros, e a ideia de escape imune ainda carece de evidências<sup>18,19</sup>.

O papel específico que os linfócitos T desempenham ainda não está claro, o que requer mais estudos até que possa ser descoberto. Compreender plenamente a atuação

da autoimunidade em que os linfócitos T estão envolvidos na patogênese da HPN pode fornecer estratégias mais novas e precisas no tratamento, o que pode retardar o ataque dos linfócitos T às CTH sem mutação do gene *PIG-A* e melhorar a qualidade de vida de pacientes<sup>18,19,20</sup>.

## Referência Bibliográfica

1. Brodsky, R. A. **Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.** Blood. 124(18): 2804–2811. Oct, 2014.
2. Brodsky RA. **Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria without GPI-anchor deficiency.** J Clin Invest. 129(12):5074-5076. Dec, 2019.
3. Hill, A., DeZern, A. E., Kinoshita, T., Brodsky, R. A. **Paroxysmal nocturnal hemoglobinúria.** Nat Rev Dis Primers. 3: 17028. May, 2017.
4. Bektas M, Copley-Merriman C, Khan S, Sarda SP, Shammo JM. **Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: role of the complement system, pathogenesis, and pathophysiology.** J Manag Care Spec Pharm. 26(12-b Suppl):S3-S8. 2020 Dec.
5. Devalet B, Mullier F, Chatelain B, Dogné JM, Chatelain C. **Pathophysiology, diagnosis, and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a review.** Eur J Haematol. 95 (3):190-8. Sep, 2015.
6. DeZern AE, Brodsky RA. **Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a complement-mediated hemolytic anemia.** Hematol Oncol Clin North Am. 29(3):479-94. Jun, 2015.
7. Carlisi M, Mancuso S, Caimi G, Siragusa S. **Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-like phenotype and thrombotic risk in several clinical disorders.** Panminerva Med. 63 (2):232-233. Jun, 2021.
8. Čermák J. **Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.** Vnitr Lek. Summer;64(5):508-513. English, 2018.
9. Borowitz MJ et al. **Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry.** Cytometry B Clin. Cytom 78, 211–230 2010.
10. Dulau-Florea A, Maric I, Calvo KR, Braylan RC. **Detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) in bone marrow aspirates.** Semin Hematol. 56(1):65-68. Jan, 2019.
11. Illingworth AJ, Marinov I, Sutherland DR. **Immunophenotyping of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH).** Methods Mol Biol. 2032:323-354. 2019.
12. Krawitz PM et al. **A case of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria caused by a germline mutation and a somatic mutation in PIGT.** Blood 122, 1312–1315, 2013.

13. Murakami Y et al. **Mechanism for release of alkaline phosphatase caused by glycosylphosphatidylinositol deficiency in patients with hyperphosphatasia mental retardation syndrome.** J. Biol. Chem 287, 6318–6325 2012.

14. Luzzatto, L. **Recent advances in the pathogenesis and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.** F1000 Faculty Ver. 5, 209. Version 1. Feb, 2016.

15. Hill A, Sapsford RJ, Scally A, et al. **Under-recognized complications in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: raised pulmonary pressure and reduced right ventricular function.** Br J Haematol. 2012.

16. Gargiulo L, Papaioannou M, Sica M, Talini G, Chaidos A, Richichi B, Nikolaev AV, Nativi C, Layton M, de la Fuente J, Roberts I, Luzzatto L, Notaro R, Karadimitris A. **Glycosylphosphatidylinositol-specific, CD1d-restricted T cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.** Blood. 4;121(14):2753-61. doi: 10.1182/blood-2012-11-469353. Apr, 2013.

17. Li C, Dong X, Wang X, Shao Z. **The Role of T Lymphocytes in the Pathogenesis of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria.** Front Immunol. 12: 777649. 2021.

18. Han B, Wu Y, Lu Z, Zhang Z. **[Proliferative capacity of the isolated single CD(34)(+) glycosylphosphatidylinositol-anchored (GPI) protein negative and positive hematopoietic cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria].** Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi. 23(5):233-5. Chinese. May, 2002.

19. Murakami Y, Kosaka H, Maeda Y, Nishimura J, Inoue N, Ohishi K, Okabe M, Takeda J, Kinoshita T. **Inefficient response of T lymphocytes to glycosylphosphatidylinositol anchor-negative cells: implications for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.** Blood. 1;100(12):4116-22. Jul, 2002.

20. Gargiulo L, Lastraioli S, Cerruti G, Serra M, Loiacono F, Zupo S, Luzzatto L, Notaro R. **Highly homologous T-cell receptor beta sequences support a common target for auto-reactive T cells in most patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.** Blood. 1;109(11):5036-42. Jun, 2007.