

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ДИССЕРТАЦИОННЫМ ТЕМАМ

УДК 616.633.963.42-092

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА НОЧНОЙ ПАРОКСИЗМАЛЬНОЙ ГЕМОГЛОБИНУРИИ (СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ)

**В.Г. Сиповский, В.А. Титова, К.И. Лебедев,
А.И. Неворотин, В.А. Добронравов, А.В. Смирнов,**

Научно-исследовательский институт нефрологии ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»

Сиповский Василий Георгиевич – e-mail: sipovski@mail.ru

Статья посвящена патоморфологической диагностике пароксизмальной ночной гематурии (НПГ) (болезнь Маркиафа) на примере случая из практики. Специфичным для заболевания является гемоглобинурия в ночное время. При лабораторных исследованиях внутрисосудистый гемолиз – это основная характерная черта классической НПГ. Патологоанатомические изменения почек характеризуются развитием интерстициального нефрита и гемосидероза почек. Ультраструктурно эпителий проксимальных канальцев содержит гетерофагосомы, заполненные гемосидерином. Особенностью данного случая является принадлежность патологии ко второму типу болезни Маркиафа, то есть возникновению болезни на фоне апластической анемии.

Ключевые слова: ночная пароксизмальная гемоглобинурия, гемосидерин, проксимальные канальцы.

The article is devoted to the patomorphological diagnosis of paroxysmal nocturnal hematuria – Markiafava disease (PNH) by the presentation one case from the practice. Hemoglobinuria at night is specific for the disease. Under laboratory studies intravascular hemolysis - is the main characteristic for classical PNH. Pathological changes of kidney are characterized by the development of interstitial nephritis and renal hemosiderosis.

Ultrastructurally proximal tubule epithelium contains heterofagosomy filled with hemosiderin. The second type of the disease Markiafa (the appearance of the disease on the background of aplastic anemia) is the feature of this case.

Key words: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, hemosiderin, proximal tubules.

Ночная пароксизмальная гемоглобинурия (НПГ) является довольно редким заболеванием, частота встречаемости которого составляет 1–2 случая на миллион [1]. Несмотря на то что НПГ представляет собой гематологическую патологию, пациенты с НПГ, тем не менее, часто бывают госпитализированы в нефрологические отделения, что обусловлено развитием острого повреждения почки (ОПП), вызванного гемосидерозом тубуло-интерстиция.

Больная Е., 25 лет, поступила в нефрологическое отделение в связи с резким ухудшением самочувствия, с жалобами на нарастающую слабость, одышку, чувство нехватки воздуха. В последние два месяца до этой госпитализации отмечалось изменение нормального цвета мочи на черный, без олигурии и анурии. Из анамнеза известно, что

больная Е. с 2006 г. регулярно наблюдается у гематолога в связи с установленным по данным трепанобиопсии диагнозом «апластическая анемия». В то же время у пациентки обнаруживается минорный клон НПГ и отмечаются периодические эпизоды внутрисосудистого гемолиза, определяемые по нарастанию уровня ЛДГ и билирубина и не сопровождающиеся изменением цвета мочи. С 2006 года клон НПГ определялся регулярно, и в 2012 году было отмечено его нарастание до 51%, что примерно совпадает со временем возникновения первых эпизодов изменения цвета мочи. В 2006 году обнаружен гепатит С. При обследовании в клинике:

в данную госпитализацию АД 120/80. Отеков нет. СГБ 0,007 г/л. Креатинин плазмы 59 ммоль/л. Мочевина

3,7 ммоль/л. СКФ 121,9 мл/мин. Альбумин плазмы 36 г/л. Гемоглобин 86 г/л. Реакция на HCVAb положительна. Эритроциты $3 \cdot 10^9$. Гемоглобин 86 г/л. Фибриноген 2,8 г/л. ПТ 106. СОЭ 28 мм/ч. Уд. вес мочи 1005. Белок 0,4 г/л, лейкоциты 0–2, Эр – ед.

Для уточнения диагноза была проведена нефробиопсия.

При светооптическом исследовании: в срезах 18 клубочков, из них были полностью склерозированы 2, с сегментарным склерозом – 0. Базальные мембраны капилляров клубочка не утолщены, фуксинофильные отложения по мембранам и в мезангии отсутствовали. Мезангиальной и эндокапиллярной пролиферации не отмечалось. Расширение мезангиального матрикса было незначительным. Полулуний в клубочках не наблюдалось. В канальцах наблюдалась умеренная зернистая дистрофия, незначительная гиалиновокапельная дистрофия и очаговый некробиоз эпителия проксимальных канальцев. Атрофия канальцев была незначительной. В цитоплазме тубулярного эпителия наблюдалось значительное количество гранул гемосидерина (рис. 1). Очаговый фиброз был обнаружен в 20–25% тубулоинтерстиция нефробиоптата. Отека лейкоцитарной клеточной инфильтрацией (лимфоциты, макрофаги, единичные эозинофилы) в интерстиции не отмечалось. Массивные гранулы гемосидерина формировали цилиндры в просвете канальцев (рис. 2). Эластофиброза артерий и периваскулярного склероза не наблюдалось. При иммунофлуоресцентной микроскопии выявлены фокально-сегментарные отложения IgM, С3 фракции компонента и фибриногена мезангии (рис. 3, 4).

При ультраструктурном исследовании определяются дистрофические изменения подоцитов с формированием вакуолей от мелких до вакуолей гигантского размера, вторичные отростки подоцитов преимущественно сохранены, имеет место микровиллезная трансформация. В отдельных локусах присутствуют подоциты с деструктивными изменениями. Депозиты не обнаружены. В отдельных капиллярах выражено набухание эндотелия и нарушение фенестр. Наблюдаются единичные руптуры базальных мембран капилляров клубочка. В канальцах – вакуольная дистрофия. Щеточная кайма преимущественно сохранена. Эпителий проксимальных канальцев содержит гетерофagosомы, заполненные гемосидерином, набухание основного вещества субэпителиального интерстиция (рис. 5, 6).

На основании вышеизложенного был поставлен диагноз: «гемосидероз эпителия канальцев». Изменения в гломерулах рассмотрены как вторичные (причина – болезнь Макиафа-Мишели), представленные мезангиально-пролиферативным гломерулонефритом. После появления в печати первых сообщений о данном клиническом синдроме [2] и последующем детальном исследовании патологического процесса [3], было сформулировано название болезни Маркиафа-Мишели и получил распространение термин «ночная пароксизмальная гемоглобинурия» [4].

Клиническая картина, как правило, типична [4]. Жалобы больных обычно сводятся к слабости, головокружениям, одышке, сердцебиению. Характерным признаком являются боли в животе различной локализации и интенсивности, наблюдающиеся в период криза и связанные с капил-

лярными тромбозами мезентериальных сосудов. Нередко отмечаются тромбозы периферических сосудов, чаще в венах верхних и нижних конечностей, а также других сосудов: мозговых, селезеночных, почечных. В период криза у больных может повышаться температура. Типичным признаком заболевания является появление мочи темного цвета, обусловленное выделением с мочой гемосидерина и гемоглобина. Нередко гемоглобинурия имеет место в ночное время, что объясняется наступающим во время сна физиологическим ацидозом [4]. В соответствии с рекомендациями интернациональной группы по исследованию НПГ [1], пациенты, страдающие НПГ, могут быть разделены на три категории: классическая НПГ; НПГ, возникшая как осложнение синдрома недостаточности костного мозга; субклиническая НПГ. Субклиническая НПГ характеризуется незначительной степенью гемолиза, который не улавливается биохимическими методами исследования. Следовательно, пациенты с субклинической НПГ не нуждаются в специфическом лечении. У пациентов с НПГ, развившейся как осложнение другого синдрома недостаточности костного мозга (обычно это апластическая анемия или миелодиспластический синдром с низким риском), имеются по крайней мере биохимические доказательства гемолиза, но обычно дефектный клон эритроцитов немногочислен (около 10%) и его гемолиз не является собственно причиной анемии. В двух вышеперечисленных случаях лечение должно быть направлено на устранение синдрома недостаточности костного мозга. Внутрисосудистый гемолиз – это основная характерная черта классической НПГ. Патологоанатомические изменения характеризуются, как правило, развитием интерстициального нефрита и гемосидерозом почек, наиболее выраженным в эпителии извитых канальцев; признаков внепочечного гемосидероза, как правило, не наблюдается. Известный интерес представляет гистологическое исследование селезенки. В отличие от других форм анемии с преимущественным внутриклеточным распадом эритроцитов, при болезни Маркиафа не отмечается гиперплазии эндотелия синусов и эритрофагоцитоза. Увеличение селезенки, достигающее иногда значительной степени, происходит за счет множественных сосудистых тромбозов с развитием периваскулярного склероза. Изменения в печени сводятся к дистрофическим и некробиотическим процессам, связанным с венозными тромбозами и с малокровием.

Острое повреждение почки (ОПП) – известное осложнение гемолитических кризов при НПГ. Тем не менее хроническая почечная недостаточность развивается редко. ХПН при НПГ является диагнозом исключения [2].

Ночная пароксизмальная гемоглобинурия занимает особое место на границе гематологии и комплементологии в связи с тем, что попытки идентификации молекулярного базиса гемолитической анемии, как одного из основных синдромов при НПГ, привели к новым открытиям в области регуляции альтернативного пути активации системы комплемента [1]. Открытия начались с довольно плодотворных работ Thomas Hale Ham во второй половине 30-х годов XX века, который выдвинул гипотезу о наличии нового, независимого от антител, механизма активации комплемента. Впоследствии эти работы способствовали открытию пропердинового пути активации (альтернативный

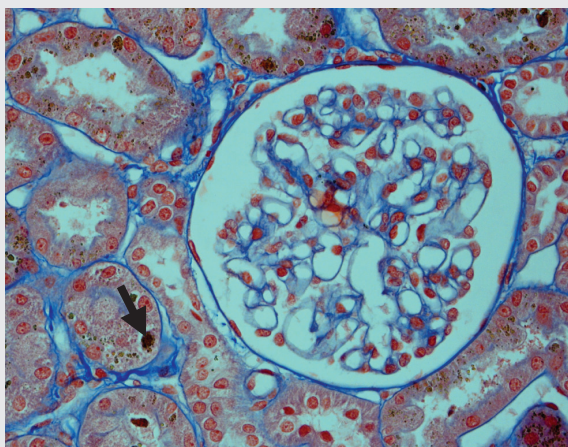


РИС. 1.
Микрофотограмма больной Е.
Накопление гранул гемосидерина в цитоплазме проксимальных канальцев (черная стрелка). Окраска по Массону. Увеличение x40.

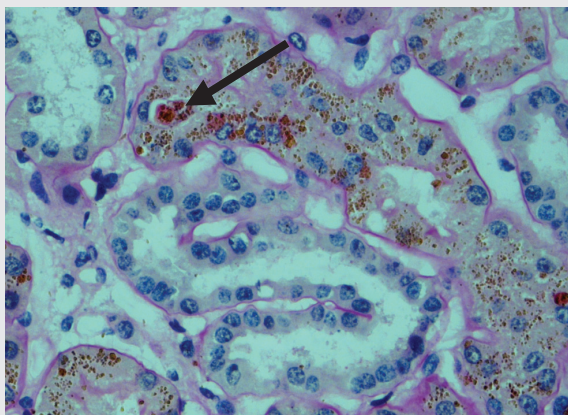


РИС. 2.
Микрофотограмма больной Е.
Накопление гранул гемосидерина в цитоплазме и просвете проксимальных канальцев (черная стрелка). Окраска ШИК. Увеличение x40.

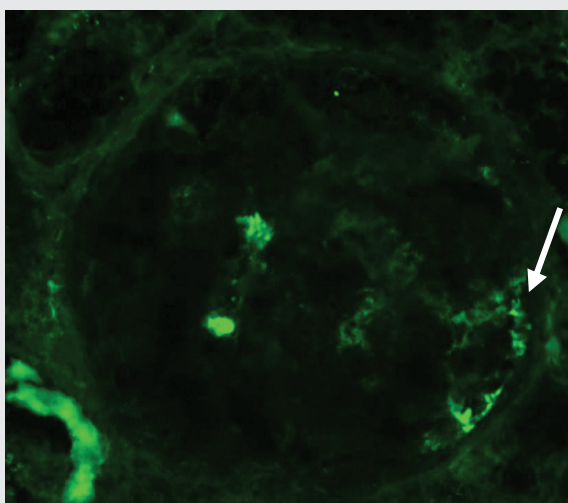


РИС. 3.
Микрофотограмма больной Е.
IgM в структурах клубочков больной Е. Фокально-сегментарное отложение депозитов IgM в мезангиальном матриксе клубочка (белая стрелка). Прямая иммунофлуоресценция IgM-FITC. Увеличение x63.

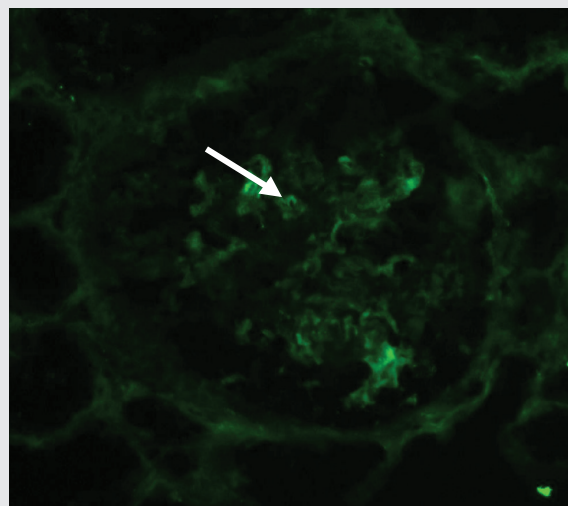


РИС. 4.
Микрофотограмма больной Е.
Фокально-сегментарное отложение депозитов фибрина в мезангиальном матриксе клубочка (белая стрелка). Прямая иммунофлуоресценция Фибриноген-FITC. Увеличение x40.



РИС. 5.
Электроннограмма дистальных канальцев больной Е.
Незначительное набухание цитоплазматического матрикса, цистерн эндоплазматического ретикулума и комплекса Гольджи, отек интерстиция (стрелка). Увеличение x10 000.

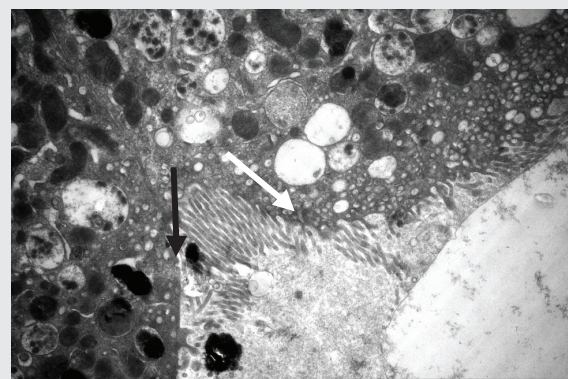


РИС. 6.
Электроннограмма проксимальных канальцев, больная Е.
Накопление гетерофагосом, в том числе гранул гемосидерина в цитоплазме эпителия проксимальных канальцев (стрелка). Гемосидерин в просвете канальца (наконечник стрелки). Сглаживание и укорочение ресничек клеток. Увеличение x10 000.

путь активации комплемента) в 1950 году [1]. Пытаясь выявить причины аберрантной активации комплемента в условиях НПГ, ученые пришли к открытию двух протеинов, важных регуляторов комплемента. Первый из них – фактор, ускоряющий распад decay accelerating factor (DAF, CD55) был открыт в 70-х, второй – мембранный ингибитор реактивного лизиса – membrane inhibitor of reactive lysis (MIRL, CD59) – был открыт в 80-х годах XX века. Открытие двух этих молекул привело в конечном итоге к созданию препарата «Экулизумаб» в 2007 г. – успешной таргетной терапии НПГ, важным патофизиологическим звеном которой являлось нарушение регуляции комплемента. В отличие от других аномалий строения эритроцита, НПГ – это приобретенное заболевание. Несмотря на то что основной упор в данном обзоре сделан на гемолитическую анемию, вызванную активацией комплемента как основного патофизиологического синдрома, тем не менее НПГ – это заболевание гемопоэтических стволовых клеток. НПГ развивается как результат доброкачественной экспансии одного из нескольких клонов гемопоэтических клеток с приобретенным генетическим дефектом гена, расположенного в X-хромосоме и называемого PIGA. Этот ген ответственен за синтез гликозил – фосфотидилинозитола (Glycosyl Phosphatidylinositol – GPI), который в свою очередь отвечает за прикрепление некоторых белков к наружной стороне клеточной мембраны. Как следствие мутации в гене PIGA, у всех последующих зрелых форм (эритроциты, гранулоциты, моноциты, тромбоциты и лимфоциты) обнаруживается недостаточность GPI-прикрепленных протеинов (GPI-APs), которые нормально экспрессируются в этих клетках, но не могут быть прикреплены к мембране в связи с недостаточностью GPI. Среди GPI-APs, которые отсутствуют на поверхности эритроцитов, при НПГ выделяются два основных регулятора комплемента – DAF (CD55) и MIRL (CD59). Недостаточность CD55 и CD59 и, как следствие, развитие внутрисосудистого гемолиза, вызванного гиперактивацией комплемента, является отличительной чертой НПГ. Клиническими проявлениями НПГ являются гемолитическая анемия, тромбофилия, недостаточность костного мозга, однако только гемолитическая анемия является прямым следствием соматической мутации PIGA [1, 2].

Особенностью данного случая является принадлежность патологии ко второму типу болезни Маркиафа, то есть возникновению болезни на фоне апластической анемии и нарастанию клинических проявлений в соответствии с ростом клона НПГ виде развития гемосидероза канальцев, с последующим ОПП, приведшим больную в нефро-

логическую клинику. Морфологические исследования, проведенные в клинике, выявили типичные для данной патологии изменения в виде гемосидероза проксимальных канальцев.

Однако изменения в гломерулах в виде незначительной мезангиальной пролиферации по типу мезангиально-пролиферативного гломерулонефрита, выявленные при световой микроскопии, требуют особого обсуждения. При ультраструктурном исследовании были обнаружены руптуры базальных мембран капилляров, а также дистрофические изменения в подоцитах в виде формирования вакуолей разного калибра до вакуолей крупного размера, появление микровиллезной трансформации, в отдельных локусах изменения подоцитов деструктивного характера, а также изменения со стороны эндотелия в виде его выраженного набухания с деформацией фенестр.

Оценивая собственный материал, мы проанализировали имеющиеся сведения в литературе в части описания случаев НПГ, ассоциированной с такими формами гломерулонефрита, как фокально-сегментарный [5], мембранозно-пролиферативный [5], волчаночный нефрит [6], болезнь Шонляйн-Геноха [7]. Однако мы полагаем, что в данном случае изменения со стороны клеток гломерулы не являются доказательством ассоциации НПГ с какой-либо формой гломерулонефрита, а являются проявлениями токсического действия гемоглобина и продуктов его трансформации [8].



ЛИТЕРАТУРА

1. Parker C., Omine M., Richards S. et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2005. V. 106. № 12. P. 3699-3709.
2. Kumpers P., Herrmann A., Lotz J., Mengel M., Schwarz A. A blue kidney – chronic renal failure as a consequence of siderosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Clin Nephrol*. 2006. V. 66. № 3. P. 210-213.
3. Hsiao P. J., Wang S.C., Wen M.C., Diang L.F., Lin S.H. Fanconi syndrome and CKD in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and hemosiderosis. *Am. J. Kidney Dis*. 2010. V. 55. № 1. P. 1-5.
4. Luzzatto L., Gianfaldoni G.: Recent advances in biological and clinical aspects of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Int. J. Hematol*. 2006. V. 84. P. 104-112.
5. Takahashi K., Yoshimura A., Inoue Y., Takahashi N. et al. A case of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria combined with focal segmental glomerular sclerosis. *Nihon Jinzo Gakkai shi*. 2001. V. 43. № 1. P. 39-43.
6. Nakamura N., Sugawara T., Shirato K., Kumasaca R. et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in systemic lupus erythematosus: a case report. *J. of medical case*. 2010. V. 55. № 1. P. 1-5.
7. Cozzi F., Botsios C., Ostuni P., Striso P. et al. Adult Henoch-Schönlein purpura with glomerulonephritis and paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: an uncommon association. *Clin. Rheumatol*. 2002. V. 21. № 5. P. 408-410.
8. Moreno J.A., Martin-Cleary C., Gutierrez E. AKI associated with macroscopic glomerular hematuria: clinical and pathophysiological consequences. *Clinical Journal of American*. 2012. V. 7. № 1. P. 175-184.