



УДК [616.633.963.42+616.155.1/.2/.3]-036.1

А.М. САВРИЛОВА¹, А.В. КОСТЕРИНА², И.С. МАРТЫНКЕВИЧ³

¹Республиканская клиническая больница МЗ РТ, 420064, г. Казань, Оренбургский тракт, д. 138

²Казанский государственный медицинский университет, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49

³Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России, 193024, г. Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16

Сочетание пароксизмальной ночной гемоглобинурии и миелопролиферативного заболевания

Саврилова Алсу Мухарямовна — врач-гематолог консультативной поликлиники, тел. +7-905-312-63-09, e-mail: alsu-mindubaeva@yandex.ru

Костерина Анна Валентиновна — ассистент кафедры госпитальной терапии, тел. +7-917-273-77-68, e-mail: avakost@mail.ru

Мартынкевич Ирина Степановна — доктор биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной генетики, тел. +7-911-225-38-03, e-mail: martynkevich.ira@mail.ru

В статье представлены данные теоретического обоснования возможности сочетания пароксизмальной ночной гемоглобинурии и миелопролиферативного заболевания. Описан клинический случай сочетания данных заболеваний, подтвержденный лабораторными методами (иммунофенотипирование периферической крови, цитогенетическое исследование костного мозга, трепанобиопсия) и осложненный наличием транслокации высокого риска трансформации в острый лейкоз t (X;7).

Ключевые слова: пароксизмальная ночная гемоглобинурия, миелопролиферативное заболевание, Jak2 V617F, транслокация t (X;7).

A.M. SAVRILOVA¹, A.V. KOSTERINA², I.S. MARTYNKEVICH³

¹Republican Clinical Hospital of the MH of RT, 138 Orenburgskiy Trakt, Kazan, Russian Federation, 420064

²Kazan State Medical University, 49 Butlerov St., Kazan, Russian Federation, 420012

³Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology FMBA of Russia, 16 2nd Sovetskaya St., Saint-Petersburg, Russian Federation, 193024

The combination of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and myeloproliferative disease

Savrilova A.M. — haematologist of consultative polyclinic, tel. +7-905-312-63-09, e-mail: alsu-mindubaeva@yandex.ru

Kosterina A.V. — Assistant of the Department of Hospital Therapy, tel. +7-917-273-77-68, e-mail: avakost@mail.ru

Martynkevich I.S. — D. Biol. Sc., Head of the Laboratory of Molecular Genetics, tel. +7-911-225-38-03, e-mail: martynkevich.ira@mail.ru

The article presents a theoretical published data about combination of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and myeloproliferative disorders. A clinical case of a combination of these diseases, confirmed by laboratory methods (immunophenotyping of peripheral blood, bone marrow cytogenetic study, trepan biopsy). Translocation t (X; 7) is connected with high risk of transformation to acute leukemia.

Key words: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, myeloproliferative disease, Jak2 V617F, translocation t (X;7).

Ведущим звеном в патогенезе пароксизмальной ночной гемоглобинурии (ПНГ) является потеря вследствие соматической мутации белка GPI-AP (glycosyl-phosphatidylinositol anchor protein) на поверхности клеток. Данный белок является якорем, при потере которого часть важных белков не может присоединиться к мембране. Способность присоединиться теряют многие белки, что используется для диагностики ПНГ методом иммунофенотипи-

рования (эритроциты CD59-, гранулоциты CD16-, CD24-, моноциты CD14-). Клетки с признаками отсутствия исследуемых белков называют ПНГ-клон. Все эти белки должны взаимодействовать с белками системы комплемента, в частности с C3b и C4b, разрушая ферментативные комплексы классического и альтернативного путей комплемента, и тем самым останавливать цепную реакцию комплемента. Отсутствие выше указанных белков приводит

к разрушению клеток при активации системы комплемента [1].

Хронические миелопролиферативные заболевания (ХМПЗ) — это заболевания, характеризующиеся избыточной пролиферацией одного или нескольких ростков кроветворения, включающие несколько клональных Ph-негативных гематологических болезней. К частым миелопролиферативным заболеваниям относятся истинная полицитемия (ИП), эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) и первичный миелофиброз (ПМФ). Их происхождение связано с трансформацией гемопоэтической стволовой клетки, результатом чего служит чрезмерная продукция зрелых клеток эритроидного, мегакариоцитарного и гранулоцитарного ростков с относительно продолжительным течением заболевания. Последние годы озаменовались фундаментальными успехами в понимании патогенеза этих болезней. Была выявлена специфическая молекулярная аномалия — приобретенная точечная мутация гена Янус-киназы 2 (Jak2 V617F), обнаруживаемая при ИП, ЭТ и ПМФ. Данная мутация была открыта у большинства пациентов с ИП и у 50-60 % пациентов с ЭТ и ПМФ [2]. Функция белков JAK заключается в том, что они служат промежуточным звеном между рецепторами на мембране клетки и сигнальными молекулами. Когда определенные цитокины или факторы роста (эритропоэтин, тромбопоэтин, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, интерферон- γ и др.) связываются с рецепторами JAK-киназ на поверхности клетки, JAK-киназы активируются (фосфорилируются). При появлении мутации Jak2 (V617F или в экзоне 12) эти сигналы активируются автономно, независимо от связывания цитокина со своим рецептором.

Присутствие мутации Jak2 V617F или других мутаций Jak2, включая мутации в экзоне 12, теперь рассматриваются как главные критерии для диагноза ХМПЗ. Молекулярное исследование входит в диагностические критерии ВОЗ 2008 г., а тесты на наличие мутаций Jak2 стали стандартным методом диагностики ХМПЗ. Показано, что выявление одной из этих мутаций, несомненно, устанавливает наличие клонального ХМПЗ и исключает возможность реактивного эритроцитоза, тромбоцитоза или миелофиброза [3].

Несмотря на объективные различия, в литературе давно высказывались предположения о общности в механизмах возникновения ХМПЗ и ПНГ. При ПНГ описаны разнообразные клоны клеток, связанные с нарушениями в стволовой клетке, которые предрасполагают к дальнейшим мутациям, описанным при ХМПЗ [4-7]. Интересно, что Li S. и соавторы опубликовали в 2001 году статью, сообщающую, что до 21% больных ХМПЗ имеют клоны клеток, дефицитных по CD59 и CD55 [8].

В работе Fouassier M. и соавторов представлены результаты исследования мутации Jak2 V617F у больных ПНГ. В группе 11 больных (у 3 был минорный клон) мутация Jak2 V617F обнаружена не была [9]. Поэтому представляет интерес, представленный ниже случай доказанного лабораторно наличия у одного пациента ПНГ и ХМПЗ с высоким риском трансформации в острый лейкоз.

Больная Г., 60 лет. Жалобы на слабость, одышку при физической нагрузке, желтую окраску склер, темную мочу по утрам, некоторые дни — моча желтая, но мутная, с неприятным запахом.

Анамнез заболевания. Считает себя больной с июля 2014 года, когда был подъем температуры до

38°C и появился сухой кашель. После обращения за медицинской помощью была госпитализирована в ЦРБ с диагнозом: Внебольничная правосторонняя нижнедолевая пневмония средней степени тяжести. ЖДА. Гепатоспленомегалия. Сахарный диабет 2-го типа, легкой степени. Пульмонэктомия в анамнезе. В общем анализе крови (ОАК) от 17.07.14: Hb — 70 г/л, Eг — 2.88×10^{12} /л, лейкоц. — 12.2×10^9 /л, лейкоформула: п-1, с-64, л-31, м-2, э-2, СОЭ — 36 мм/час, ретикулоциты — 5%, Тг — 539.7×10^6 /л. На фоне лечения антибиотиками, отхаркивающими и препаратами железа, самочувствие улучшилось: уменьшился кашель, нормализовалась температура, отмечалось разрешение пневмонии. В ОАК от 29.07.14: Hb — 92 г/л, Eг — 3.61×10^{12} /л, СОЭ — 10 мм/час, Тг — 659000. Большая была выписана домой, но через 4 дня появилась красная моча, иктеричность склер и она была вновь госпитализирована в стационар с диагнозом «гемолитическая анемия». Гемолитический криз также отмечался 14.08.2014, 26.08.2014. Был выставлен диагноз: Миелопролиферативное заболевание. Лейкемоидная реакция. Гемолитическая анемия» и начата терапия глюкокортикостероидами. После 5 дней применения глюкокортикостероидов цвет мочи стал соломенно-желтым, уровень общего и непрямого билирубина снизились. Через 2 дня после отмены глюкокортикостероидов вновь развился гемолиз. Прием глюкокортикостероидов в дозе 30 мг в сутки был вновь рекомендован.

Анамнез жизни. Перенесенные заболевания — пульмонэктомия в возрасте 10 лет (диагноз не знает), удаление кисты яичника в возрасте 48 лет, аппендэктомия в возрасте 20 лет. Год назад установлен диагноз: сахарный диабет 2-го типа, легкое течение. Аллергии не отмечает. Переливания крови никогда не производились. Наследственность — не отягощена. Никогда не курила и не злоупотребляла алкоголем. Беременностей не было, менопауза с 49 лет.

Объективный статус: Состояние средней тяжести: беспокоит одышка при физической нагрузке и в покое, слабость. Кожные покровы чистые, умеренно влажные, бледные, склеры иктеричны. Видимые слизистые — бледные, иктеричные. Периферические лимфатические узлы не увеличены. Костно-мышечная система — без видимой патологии. Легкие — перкуторный звук легочной, дыхание везикулярное, хрипов нет. ЧДД — 18 в мин. Сердце — границы сердца не расширены, тоны ясные, приглушены, ритм правильный, шумов не выслушивается. АД — 120/80 мм рт.ст., ЧСС — 87 в минуту. Живот мягкий, безболезненный. Перкуторные размеры печени $15 \times 12 \times 10$ см. Край печени выступает на 3 см ниже правой реберной дуги, ровный, безболезненный, плотный. Перкуторные размеры селезенки 14×9 см, нижний полюс пальпируется ниже левой реберной дуги на 3 см. Отёков нет.

Результаты лабораторного и инструментального обследования: ОАК — Hb 75 г/л, Eг — 2.39×10^{12} /л, лейкоц. 7.9×10^9 /л, лейкоформула.: п-3, с-70, л-22, м-3, э-2, СОЭ — 10 мм/час, Тг 2151000.

По данным биохимического анализа крови — двукратное повышение общего билирубина за счет непрямой фракции, резкое повышение ЛДГ до 15 норм (N). По результатам иммунограммы есть увеличение СРБ до 2 (N) и пониженное количество IgM.

Заключение по стеральнойной пункции: костный

**Цитофлуориметрическое исследование от 18.09.2014**

Клетки	GPI-недостаточность	Результат
Эритроциты	Тип II (частичная недостаточность CD59) Тип III (полное отсутствие CD59) Суммарная величина эритроцитарного ПНГ клона	0,17% 44,70% 44,87%
Гранулоциты	FLAER-/CD24-	23,38%
Моноциты	FLAER-/CD14-	12,20 %

мозг нормоклеточный, миелоидный росток в пределах нормы, эритроидный росток — пролиферация за счет поздних полихроматофильных нормобластов, имеются признаки дисэритропоэза.

Трепанобиопсия: трепанобиоптат небольшого объема, фрагментирован. Костные балки истончены. В костномозговых полостях гиперклеточный костный мозг, относительно возрастной нормы. Гранулоцитарный и эритроидный росток не расширены. Отмечается пролиферация мегакариоцитов, мегакариоциты крайне полиморфны по размеру и форме (от микроформ, до крупных и гигантских генераций) с гипо и гиперсегментированными ядрами, большая часть мегакариоцитов с незрелой морфологией, расположены разрозненно и группами по 2-3 клетки межтрабекулярно. Строма отечная, просветы части синусов открыты, пусты. При окрашивании по Массону коллагеновый фиброз не выявлен. Заключение: в трепанобиоптате морфологическая картина миелопролиферативного заболевания (опухоли), эссенциальной тромбоцитемии.

По данным цитогенетического исследования от 20.11.14: кариотип mos 46X, t (X;7)(p21;q11)[9]/46,XX[11]. В 45% проанализированных метафаз обнаружена t (X;7).

ПЦР от 01.10.14: JAK-2 (мутация V617F) обнаружена.

По данным УЗИ органов брюшной полости размеры печени и селезенки увеличены, признаков портальной гипертензии и желчнокаменной болезни нет. По ФГДС — есть признаки хронического гастродуоденита и эзофагита.

По результатам обследования был выставлен диагноз: «Пароксизмальная ночная гемоглобинурия, классическая форма, хронический внутрисосуди-

стый гемолиз, гемолитические кризы. Хроническое миелопролиферативное заболевание. Эссенциальная тромбоцитемия. Транслокация t (X;7) по данным цитогенетического исследования».

Сочетание пароксизмальной ночной гемоглобинурии с эссенциальной тромбоцитемией и наличие транслокации t (X;7) указывает на очень высокий риск трансформации в острый лейкоз и требует проведения трансплантации стволовых клеток у данной больной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Parker C., Omine M., Richards S. et al. For the International PNH Interest Group. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *Blood*. Dec 1 2005. — Vol. 106 (12). — P. 3699-709.
2. Tefferi A., Vardiman J.W. Classification and of myeloproliferative neoplasms: Tye 2008 World Health Organization criteria and point-of care diagnostic algorithms // *Leukemia* 2008. — Vol. 22. — P. 14-22.
3. Tefferi A., Vardiman J.W. The diagnostic interface between histology and molecular tests in myeloproliferative disorders // *Curr Opin. Hematol.* — 2007. — Vol. 14. — P. 115-22.
4. Li S., Kralovics R., De Libero, Theocharides A. et al. Clonal heterogeneity in polycythemia vera patients with JAK2 exon 12 and Jak2-V617F mutations // *Blood*. — 2008. — Vol. 111. — P. 3863-3866.
5. Wanachiwanawin W., Siripanyaphinyo U., Piyawattanasakul N. et al. A cohort study of the nature of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones and PIG-A mutations in patient with aplastic anemia // *Eur J Haematol.* — 2006. — Vol. 76. — P. 502-509.
6. Trauslen A., Pacheco J.M., Dingli D. On the origin of multiple mutant clones in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // *Stem Cells*. — 2007. — Vol. 25. — P. 3081-3084.
7. Kralovics R. Genetic complexity of myeloproliferative neoplasms // *Zleukemia*. — 2008. — Vol. 22. — P. 1841-1848.
8. Meletis J., Terpos E., Samarkos M. et al. Detection of CD 55 and/or CD59 deficient red cell population in patient with aplastic anemia, myelodysplastic syndromes and myeloproliferative disorders // *Haematologia (Budap)*. — 2001. — Vol. 31. — P. 7-16.
9. Fouassier M., Girodon F., Cleyrat C., Robillard N. et al. Absence of Jak2 -V617F in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-associated thrombosis // *Thromb Haemost.* — 2009. — Vol. 102. — P. 180-182.