

А.В. КОСТЕРИНА, А.Р. АХМАДЕЕВ, М.Т. САВИНОВА

УДК 616.633.963.42-07-08

Казанский государственный медицинский университет
Республиканская клиническая больница МЗ РТ, г. Казань

Современные методы диагностики и лечения пароксизмальной ночной гемоглобинурии

Костерина Анна Валентиновна

ассистент кафедры госпитальной терапии КГМУ

320111, г. Казань, ул. Б. Красная, д. 36 А, кв. 22, тел. 8-917-273-77-68, e-mail: avakost@mail.ru

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) - редкое (орфанное) заболевание с разнообразной клинической картиной. Потеря белка GPI-AP, вследствие соматической мутации на поверхности клеток, является ведущим звеном в патогенезе. Гемолиз, тромбоз и цитопения — характерные клинические проявления. Золотым стандартом диагностики является проточная цитометрия. Трансплантация стволовых клеток и биологический агент экулизумаб являются самыми современными методами лечения.

Ключевые слова: пароксизмальная ночная гемоглобинурия, гемолиз, тромбоз, проточная цитометрия, трансплантация стволовых клеток, экулизумаб.

A.V. KOSTERINA, A.R. AHMADEEV, M.T. SAVINOVA

Kazan State Medical University

Republican Clinical Hospital of Ministry of Health Care of the Republic of Tatarstan, Kazan

Modern methods of diagnosis and treatment paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (APG) - rare (orphan) diseases with varied clinical presentation. The loss of protein GPI-AP, due to somatic mutation on the cell surface, is the leading players in the pathogenesis. Hemolysis, thrombosis and cytopenia - characteristic symptoms. The gold standard of diagnosis is flow cytometry. Transplantation of stem cells and biological agent eculizumab are the most modern methods of treatment.

Keywords: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, hemolysis, thrombosis, flow cytometry, stem cell transplantation, eculizumab.

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) является редким (орфанным) заболеванием. Смертность при ПНГ составляет около 35% в течение 5 лет от начала заболевания. К сожалению, большинство случаев остается недиагностированными. Клинические проявления разнообразны и пациенты могут наблюдаться с такими диагнозами, как апластическая анемия, тромбозы неясной этиологии, гемолитическая анемия, рефрактерная анемия (миелодиспластический синдром). Средний возраст пациентов 30-35 лет.

Ведущим звеном в патогенезе является потеря, вследствие соматической мутации, белка GPI-AP (glycosylphosphatidylinositol anchor protein) на поверхности клеток. Данный белок является якорем, при потере которого часть важных белков не могут присоединиться к мембране. Способ-

ность присоединиться теряют многие белки, что используется для диагностики ПНГ методом иммунофенотипирования (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 вышеуказанных белков приводит к разрушению клеток при активации системы комплемента [1].

Различают три основных клинических синдрома при ПНГ: гемолитический, тромботический, цитопенический. У каждого пациента может быть одно, два или все три синдрома.



«Классической» формой называют проявления заболевания в виде выраженного гемолиза ± тромбозы, костный мозг при этой форме – гиперклеточный. Выделяют отдельную форму сочетания ПНГ и недостаточности костного мозга (ПНГ+ апластическая анемия, ПНГ+ миелодиспластический синдром), когда нет выраженных клинических проявлений, но есть косвенные лабораторные признаки гемолиза. Наконец, существует, третья, субклиническая форма, при которой нет клинических и лабораторных признаков гемолиза, но есть недостаточность костного мозга и небольшой ($\leq 1\%$) ПНГ-клон [2].

Гемолиз во многом связан с отсутствием белка CD59 (membrane inhibitor of reactive lysis (MIRL)) на поверхности эритроцитов. Гемолиз при ПНГ внутрисосудистый, поэтому может появляться темная моча (гемосидеринурия) и сильная слабость. Лабораторно фиксируется снижение гаптоглобина (реакция физиологической защиты при гемолизе), повышение лактатдегидрогеназы (ЛДГ), положительной пробы на свободный гемоглобин в моче (гемосидеринурия), снижение гемоглобина с последующим увеличением ретикулоцитов, повышение несвязанной фракции билирубина. Проба Хема (гемолиз эритроцитов при добавлении к образцу крови нескольких капель кислоты) и сахарозная проба (добавление сукрозы активирует систему комплемента) используются для диагностики ПНГ.

В настоящее время считается, что гемолиз течет практически постоянно, но имеет периоды усиления. Большое количество свободного гемоглобина запускается каскад клинических проявлений. Свободный гемоглобин активно связывается с оксидом азота (NO), приводя к нарушению регулирования тонуса гладких мышц, активации и агрегации тромбоцитов (боль в животе, дисфагия, импотенция, тромбоз, легочная гипертензия). Свободный гемоглобин, не связавшийся с гаптоглобином, повреждает почки (острый тубулонефроз, пигментная нефропатия) и через несколько лет может привести к почечной недостаточности. Темная моча утром объясняется активацией системы комплемента из-за дыхательного ацидоза во время сна. Отсутствие темной мочи у некоторых больных при наличии других лабораторных признаков гемолиза (повышение ЛДГ) не противоречит диагнозу и объясняется связыванием свободного гемоглобина с гаптоглобином и оксидом азота, реабсорбцией гемоглобина в почках.

Тромбозы диагностируются у 40% больных и являются основной причиной смерти, чаще случается тромбоз собственных вен печени (синдром Бадда-Киари) и ТЭЛА. Тромбозы при ПНГ имеют особенности: часто совпадают с эпизодами гемолиза и происходят, несмотря на проводимую антикоагулянтную терапию и небольшой ПНГ-клон. В патофизиологическом обосновании тромбозов обсуждают активацию тромбоцитов ввиду недостатка CD59, активацию эндотелия, нарушенный фибринолиз, образование микрокастиц и попадание фосфолипидов в кровь в результате активации системы комплемента. Ряд авторов указывают на повышение Д-димеров и боль в животе, как основных предикторов тромбозов.

Патогенез синдрома недостаточности костного мозга при ПНГ неясен. В костном мозге сосуществуют нормальные стволовые клетки (GPI+) и клетки с мутацией (GPI-). Часто наблюдается появление небольшого (менее 1%) ПНГ-клона у больных с апластической анемией и миелодиспластическим синдромом [3].

Золотым стандартом диагностики ПНГ считается иммунофенотипирование клеток периферической крови на наличие ПНГ-клона. В заключении по исследованию указывается размер ПНГ-клона в эритроцитах (CD 59 -), гранулоцитах (CD16 -, CD24 -) и моноцитах (CD14 -). Другим методом диагностики является FLAER (fluorescently labeled inactive toxin aerolysin) – бактериальный токсин аэролизин, меченный флю-

оресцентными метками, который связывается с GPI белком и инициирует гемолиз. Преимуществом этого метода является возможность тестирования всех линий клеток в одной пробе, недостатком – невозможность теста при очень низком количестве гранулоцитов, что наблюдается при апластической анемии [4].

Лечение можно подразделить на поддерживающую терапию, профилактику тромбозов, иммуносупрессию, стимуляцию эритропоэза, трансплантацию стволовых клеток, лечение биологическими агентами. К поддерживающей терапии относятся трансфузии эритроцитов, назначение фолиевой кислоты, витамина B12, препаратов железа. Большинство пациентов с «классической» формой ПНГ зависят от гемотрансфузий. Гемохроматоз с поражением сердца и печени у больных ПНГ наблюдается редко, так как гемоглобин фильтруется в мочу. Описаны случаи гемосидероза почек.

Профилактика тромбозов проводится варфарином и низкомолекулярным гепарином, МНО должно быть на уровне 2.5-3.5. Риск тромбозов не зависит от величины ПНГ-клона [5].

Иммуносупрессия проводится циклоспорином и антитимоцитарным иммуноглобулином. Во время острого гемолиза применяют преднизолон коротким курсом.

Трансплантация стволовых клеток является единственным методом, дающим шанс полного излечения. К сожалению, осложнения и трудности подбора донора, связанные с аллогенной трансплантацией, ограничивают применение этого метода. Смертность больных ПНГ при аллогенной трансплантации составляет 40%.

С 2002 года в мире применяется препарат экулизумаб, являющийся биологическим агентом. Препарат представляет собой антитела, блокирующие компонент C5 системы комплемента. Опыт применения показал повышение выживаемости, снижение гемолиза и тромбозов, повышение качества жизни. [6].

Клинический случай «классического» варианта ПНГ.

Больная Д., 29 лет. Жалобы на слабость, желтую окраску склер, темную мочу по утрам, некоторые дни – моча желтая, но мутная, с неприятным запахом. В мае 2007 г. впервые появилась темная моча. В сентябре 2007 г. обследовалась в гематологическом научном центре (ГНЦ), г. Москва. На основании наличия положительной пробы Хема и сахарозной пробы, выявления в крови 37% (норма – 0) клона эритроцитов с иммунофенотипом CD55-/CD59-, гемосидеринурии, анемии, ретикулоцитоза в крови до 80% (норма – 0.7-1%), гипербилирубинемии за счет непрямого билирубина был установлен диагноз: ПНГ, вторичная фолиево и железодефицитная анемия.

Гемолиз усилился на фоне беременности в 2008 г. В июне 2008 года на сроке 37 недель было проведено кесарево сечение в связи с частичной отслойкой плаценты и угрозой гипоксии плода. Послеоперационный период осложнился острой почечной недостаточностью, тяжелой гипопроотеинемией. На фоне интенсивной терапии, ОПН разрешилась на четвертые сутки, нормализовались показатели крови, купирован отечный синдром. Через неделю повышение температуры до 38-39°C, слабость, озноб. Был установлен диагноз метростенометрит. Проводимая терапия была неэффективна, произведена экстирпация матки с трубами. Послеоперационный период осложнился печеночной недостаточностью с синдромами холестаза, цитолиза, мезенхимального воспаления, тяжелой гипопроотеинемией, тромбоцитопенией. По данным УЗИ диагностирован тромбоз собственных вен печени и воротной вены. Проводилась антибактериальная и антикоагулянтная терапия, введение гепатопротекторов, преднизолона, заместительная терапия СЗП, ЭМОЛТ, тромбоконтратом.



Была повторно госпитализирована в ГНЦ в связи с тромбозами портальной и собственных вен печени, тромбозом мелких ветвей легочной артерии, развитием инфекционных осложнений, с быстро нарастающим асцитом. Проводимая интенсивная антикоагулянтная терапия, антибиотикотерапия привела к частичной реканализации портальной вены и собственных вен печени, было отмечено уменьшение асцита. В дальнейшем больной длительно вводили низкомолекулярный гепарин – клексан.

В настоящее время по лабораторным показателям у больной сохраняется гемолиз – снижение гемоглобина до 60-65 г/л (норма 120-150 г/л), ретикулоцитоз до 80% (норма – 0.7-1%), повышением уровня ЛДГ до 5608 Е/л (норма – 125-243 Е/л), гипербилирубинемия до 300 мкмоль/л (норма – 4-20 мкмоль/л). Иммунофенотипирование периферической крови – суммарная величина эритроцитарного ПНГ клона 41% (норма – 0), гранулоциты – FLAER-/CD24- 97,6% (норма – 0), Моноциты – FLAER-/CD14 – 99,3% (норма – 0). Проводится постоянная заместительная терапия отмытыми эритроцитами (2-3 переливания каждые 2 месяца), фолиевой кислотой, препаратами железа, витамином В12. Учитывая очень высокий тромбогенный риск, проводится терапия варфарином (МНО – 2.5). Больная введена в национальный регистр ПНГ для планирования проведения терапии препаратом экулизумаб.

Клинический случай сочетания апластической анемии и ПНГ.

Больная Е., 22 года. Жалобы на общую слабость, шум в ушах, кровоточивость десен, синяки на теле, похудание на 3 кг, повышение температуры тела до 38 гр.

Начало заболевания постепенное, около 1 года, когда стали появляться синяки на теле. Полгода назад присоединилась кровоточивость десен, усилилась общая слабость. В апреле 2012 г. зарегистрировано снижение гемоглобина до 50 г/л. В ЦРБ проведенная терапия витамином В12, препаратами железа не дала положительного эффекта. В гематологическом

отделении РКБ – анемия тяжелой степени, Нв – 60 г/л, лейкопения $2.8 \times 10^9/\text{л}$ (норма – $4.5-9 \times 10^9/\text{л}$), тромбопения $54 \times 10^9/\text{л}$ (норма – $180-320 \times 10^9/\text{л}$), повышение ЛДГ – 349 Е/л (норма 125-243 Е/л).

По данным аспирационной биопсии костного мозга снижение мегакариоцитарного роста. Иммунофенотипирование периферической крови – суммарная величина эритроцитарного ПНГ клона 5,18%, гранулоциты – FLAER-/CD24 – 69,89%, Моноциты – FLAER-/CD14- 70,86%.

Больной трижды проводилось переливание эритроцитарной массы. В настоящее время рассматривается возможность аллогенной трансплантации стволовых клеток или назначение биологической терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Luzzatto L. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Hematology 2000 // American Society of Hematology Education Program. — 2000. — P. 28-38.
2. Parker C., Omine M., Richards S. et. al. for the International PNH Interest Group. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // Blood. — 2005. — Vol. 106, № 12. — P. 3699-709.
3. Hillmen P., Lewis S.M., Bessler M., Luzzatto L., Dacie J.V. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria // N. Engl. J. Med. — 1995. — Vol. 333, № 19. — P. 1253-8.
4. Brodsky R.A., Mukhina G.L., Li S. et. al. Improved detection and characterization of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria using fluorescent aerolysin // Am. J. Clin. Pathol. — 2000. — Vol. 114, № 3. — P. 459-66.
5. Hall C., Richards S., Hillmen P. Primary prophylaxis with warfarin prevents thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) // Blood. — 2003. — Vol. 102, № 10. — P. 3587-91.
6. Kelly R.J., Hill A., Arnold L.M. et. al. Long-term treatment with eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: sustained efficacy and improved survival // Blood. — 2011. — Vol. 117, № 25. — P. 6786-92.