

АПЛАСТИЧЕСКАЯ АНЕМИЯ, АССОЦИИРОВАННАЯ С КЛОНОМ ПАРОКСИЗМАЛЬНОЙ НОЧНОЙ ГЕМОГЛОБИНУРИИ

Цымбалюк В.В.¹, Степченко М.А.¹, Хардикова Е.М.¹, Конорев М.Ф.²

¹ ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет Минздрава России», Курск, e-mail: vadimz2552@mail.ru;

² БМУ «Курская областная клиническая больница», Курск

В настоящее время апластическая анемия встречается в различных регионах планеты, и частота встречаемости этого заболевания неуклонно возрастает. Механизмом поражения гемопоэза при апластической анемии является аутоиммунная агрессия к клеткам-предшественникам. В данной статье описано сочетанное течение апластической анемии и пароксизмальной ночной гемоглобинурии. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия – это заболевание кроветворной системы, которое обусловлено разрушением мембраны эритроцитов в сосудистом русле вследствие активации системы комплемента. Это обусловлено генетическим дефектом гена PIGA в стволовой кроветворной клетке (СКК), в результате чего нарушается синтез «якоря» гликопротеинов DAF и MIRL – белков-регуляторов активности системы комплемента. Внутрисосудистый гемолиз приводит к повышению риска тромбообразования и развитию тромбоэмболических осложнений. Внесосудистый гемолиз также встречается у пациентов с ПНГ, поскольку фрагменты C3 накапливаются на поверхности измененных эритроцитов и вызывают их опсонизацию, что приводит к повреждению ретикулоэндотелиальной системы в селезенке и печени. В данной статье описан клинический случай течения апластической анемии, ассоциированной с клоном ПНГ и эпизодами пароксизмальной ночной гемоглобинурии, особенности течения, диагностики и медикаментозного лечения заболевания.

Ключевые слова: апластическая анемия, пациент, ПНГ-клон, экулизумаб, трехростковая цитопения, пароксизмальная ночная гемоглобинурия.

APLASTIC ANEMIA ASSOCIATED WITH PAROXYSMAL NOCTURNAL HEMOGLOBINURIA

Tsybalyuk V.V.¹, Stepchenko M.A.¹, Hardikova E.M.¹, Konorev M.F.²

¹FSBEE HE «Kursk State Medical University Ministry of Health of Russia», Kursk, e-mail: vadimz2552@mail.ru

²BHI «Kursk Regional Clinical Hospital», Kursk

Currently, aplastic anemia occurs in various regions of the world, and the frequency of occurrence of this disease is steadily increasing. The mechanism of hematopoietic damage in aplastic anemia is autoimmune aggression against progenitor cells. This article describes the combined course of aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria is a disease of the hematopoietic system, which is caused by the destruction of the membrane of red blood cells in the vascular bed, due to the activation of the complement system. This is due to a genetic defect of the PIGA gene in the hematopoietic stem cell, which results in impaired synthesis of the "anchor" of DAF glycoproteins and MIRL - proteins that regulate the activity of the complement system. Intravascular hemolysis leads to an increased risk of thrombosis and the development of thromboembolic complications. Extravascular hemolysis also occurs in patients with PNH, as C3 fragments accumulate on the surface of altered red blood cells and cause their opsonization, which leads to damage to the reticuloendothelial system in the spleen and liver. This article describes a clinical case of aplastic anemia associated with PNH clone and episodes of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, the features of the course, diagnosis and drug treatment of the disease.

Keywords: aplastic anemia, patient, PNH-clone, eculizumab, three-lineagecytopenia, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.

Апластическая анемия встречается в различных регионах планеты, таких как Северная Америка, Европа, Дальний и Ближний Восток, с частотой 2 на 10⁶ населения и колеблется в зависимости от географического региона от 0,6 до 3 и более на 10⁶ населения в год [1].

К первой четверти 2020 года доказано, что механизмом поражения гемопоэза при апластической анемии является аутоиммунная агрессия к клеткам-предшественникам [2]. Развивающаяся в результате костномозговая недостаточность обусловлена подавлением пролиферации клеток-предшественников натуральными киллерами и активированными Т-лимфоцитами. Образующиеся медиаторы являются иммуносупрессорами (фактор некроза опухолей альфа (ФНО- α), гамма-интерферон (γ -ИФ)) или индукторами пролиферации Т-лимфоцитов (интерлейкин-2 (ИЛ-2)) и приводят к нарушению пролиферации и дифференцировки гемопоэтических предшественников и активации механизмов апоптоза, приводящих к уменьшению пула клеток и развитию аплазии костного мозга, его жировому перерождению [3].

Апластическая анемия по степени тяжести классифицируется на основании абсолютного содержания гранулоцитов в периферической крови и по результатам не менее трех анализов крови:

- нетяжелая (гранулоцитопения $>0,5 \times 10^9/\text{л}$),
- тяжелая (гранулоцитопения $<0,5 \times 10^9/\text{л}$),
- сверхтяжелая (гранулоцитопения $<0,2 \times 10^9/\text{л}$).

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) является редко встречающимся клональным заболеванием кроветворной системы, которое обусловлено разрушением мембраны эритроцитов в сосудистом русле вследствие активации системы комплемента [4].

Наиболее раннее описание пароксизмальной ночной гемоглобинурии было осуществлено в 1882 году. Была описана клиническая картина заболевания на примере двадцатидевятилетнего мужчины, страдавшего сильными болями в животе и приступами слабости. Отмечено, что плазма крови пациента, взятая во время ночных приступов, имела красный цвет [5].

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия обусловлена генетическим дефектом гена PIGA в стволовой кроветворной клетке (СКК), в результате чего нарушается синтез «якоря» гликопротеинов DAF и MIRL – белков-регуляторов активности системы комплемента (DAF – регулирует активность C3-конвертазы и не позволяет активировать комплемент; MIRL – блокирует сборку мембраноатакующего комплекса на поверхности клетки) [6]. Мутантные СКК получают преимущество в отношении нормальных клеток, что приводит к прогрессированию заболевания. Экспансия мутантных СКК предположительно осуществляется за счет механизмов клональной селекции и клональной эволюции [7]. Возникает клон эритроцитов, неспособных к ингибированию системы комплемента относительно собственной мембраны и лизирующихся в периферическом русле.

Внутрисосудистый гемолиз приводит к выбросу гемоглобина в сосудистое русло, который обладает способностью к активации тромбоцитов. Впоследствии это приводит к повышению риска тромбообразования и развитию тромбоэмболических осложнений. Несмотря на то что тромботические осложнения широко известны, в литературе зафиксировано очень мало случаев их возникновения, что может привести к диагностической проблеме из-за их редкости и длительному дифференциальному поиску причины тромбоза.

Внесосудистый гемолиз также встречается у пациентов с ПНГ, поскольку фрагменты С3 накапливаются на поверхности измененных эритроцитов и вызывают их опсонизацию, что приводит к повреждению ретикулоэндотелиальной системы в селезенке и печени [8].

Заболеваемость ПНГ составляет 1-1,5 на 1 000 000 населения в год (по данным международного Регистра ПНГ). ПНГ является крайне редким заболеванием. Предрасположенность к этому заболеванию несколько выше у женщин.

В классификации ПНГ выделяют 2 формы:

- классическую форму, характеризующуюся обособленным течением без присоединения других заболеваний, связанных с недостаточностью костного мозга;
- ПНГ, ассоциированную с апластической анемией/ миелодиспластическим синдромом / первичным миелофиброзом.

При этом авторы отмечают, что у больных классической формой ПНГ очень часто развивается костномозговая недостаточность [9].

Субклиническая форма в ряде зарубежных классификаций имеет место и характеризуется наличием ПНГ клона в периферической крови, но без клинико-лабораторных признаков внутрисосудистого гемолиза. Так называемый минорный ПНГ-клон является носителем приобретенной мутации без развития клинической картины заболевания и требует наблюдения специалистов-гематологов. Наличие минорного ПНГ-клона подтверждает приобретенный характер основного заболевания, в частности апластической анемии [10].

Цель исследования заключается в представлении особенностей течения и лечения апластической анемии, ассоциированной с ПНГ-клоном и эпизодами пароксизмальной ночной гемоглобинурии у пациентки в возрасте 24 лет.

Клиническое наблюдение

Пациентка Ф. поступила в гематологическое отделение БМУ «Курская областная клиническая больница» (БМУ КОКБ) 19.01.2021 с жалобами на боли в левом подреберье, в области увеличенной селезенки, одышку, сердцебиение при ходьбе, умеренную общую слабость.

Изучение анамнеза болезни показало, что начало заболевания имеет отношение к 2007 году и связано с рецидивирующими носовыми кровотечениями, в июле 2009 года в анализах крови – снижение уровня гемоглобина (Hb) до 60 г/л; на основании трехростковой цитопении (уровень лейкоцитов $2,3 \times 10^9$ /л, тромбоцитов $10-30 \times 10^9$ /л, анемии: Hb 73-105 г/л), при наличии относительного лимфоцитоза 70-80%, данных трепанобиопсии, костномозгового пунктата (снижение клеточности костного мозга, картина гипоплазии кроветворения) в Курской областной детской клинической больнице (КОДКБ) диагностирована апластическая анемия, при обследовании в РДКБ г. Москвы установлен диагноз приобретенной апластической анемии, сверттяжелой формы, с учетом эпизодов темной мочи в анамнезе – пароксизмальной ночной гемоглобинурии, в июле 2009 проведен курс специфической комбинированной иммуносупрессивной терапии АТГАМ, циклоспорином А, солумедролом, проводилась стимуляция гемопозанеулостимом 100 мкг/кг, с достижением парциального ответа на 41-е сутки.

В последующем с 2013 года ухудшение состояния, выявлен ПНГ-клон, в связи с клиникой внутрисосудистого гемолиза (повышение ЛДГ до 1589 ед/л, билирубина до 41 мкмоль/л) проводились заместительные гемотрансфузии, назначен преднизолон 2 мг/кг/сут., куранил, циклоспорин, с последующей заменой на селлсепт 1400 мг/сутки. С 2014 года начата терапия экулизумабом, что выполнялось в КОДКБ.

С августа 2017 года наблюдается гематологом БМУ «КОКБ» с диагнозом: апластическая анемия, протекающая с ПНГ-клоном. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия. Спленомегалия. Терапия экулизумабом 900 мг/каждые 2 недели – в условиях гематологического отделения КОКБ (предыдущий цикл в конце декабря 2020 года).

Ухудшение состояния 08.01.21 г., в течение последних двух суток появились боли в области увеличенной селезенки, обратилась в приемное отделение КОКБ и госпитализирована для решения вопроса об обследовании и назначения терапии.

Анамнез жизни показал, что развитие пациентки не отличалось от сверстников, у родственников заболеваний крови зарегистрировано не было. Из перенесенных заболеваний отмечает ОРВИ; туберкулез, вирусные гепатиты отрицает. Гемотрансфузии проводились по индивидуальному подбору - без осложнений. Аллергоанамнез: бисептол – эритема. Оперативные вмешательства не проводились.

Пациентке было проведено комплексное клиническое обследование, включающее в себя объективный осмотр, лабораторные и инструментальные исследования. Получены следующие результаты: объективно – общее состояние удовлетворительное. Кожные покровы бледные, геморрагические высыпания в местах инъекций. Периферические лимфоузлы не увеличены. В легких дыхание везикулярное. Тоны сердца звучные, ритм правильный. Пульс

112 уд./мин., артериальное давление 130/70 мм рт. ст. Печень выступает на 2 см из-под края реберной дуги, безболезненна при пальпации. Селезенка выступает из-под края левой реберной дуги на 14 см, плотной консистенции, безболезненная.

Группа крови А(II) Rh⁺ фенотип эритроцитов С-с+Д+Е+е-к-. Антиэритроцитарные антитела не выявлены. Прямая проба Кумбса отрицательная.

Данные инструментальных исследований: электрокардиография – синусовый ритм, блокада передней ветви левой ножки пучка Гиса.

При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости и почек обнаружены диффузные изменения паренхимы печени. Гепатомегалия. Спленомегалия.

Установлена следующая зависимость: перед госпитализацией по поводу очередного курса лечения в анализе крови трехростковая цитопения (анемия, тромбоцитопения, лейкопения), ретикулоцитоз более 50%, повышение уровня билирубина за счет непрямой фракции, повышенный уровень лактатдегидрогеназы, что свидетельствует в пользу ухудшения состояния пациентки, активности процесса аутоагрессии, выраженного гемолиза. После курса лечения экулизумабом, введения компонентов крови отмечается положительная динамика лабораторных показателей, которая полностью нивелируется с течением времени, и к следующему курсу терапии пациентка поступает с аналогичной картиной крови. Отмеченная зависимость наблюдается в течение трех лет.

Данные лабораторного исследования биохимических показателей, периферической крови представлены в таблицах 1, 2.

Таблица 1

Биохимическое исследование крови

Показатели	24.08.18	12.12.19	02.09.20	09.12.20	28.12.20	19.01.21
Общий белок, г/л	67,0	70,0	64,2	65,4	59,4	67,3
Билирубин, мкмоль/л	29,8	52,0	25,0	25,63	12,8	24,0
прямой, мкмоль/л	12,0	15,0	10,0	16,94	3,3	10,0
непрямой, мкмоль/л	17,8	37,0	15,0	8,69	9,5	14,0
Креатинин, мкмоль/л	59,56	67,52	54,0	59,72	46,92	63,0
Мочевина, ммоль/л	4,07	4,99	4,8	5,11	4,83	4,9
Аспартатаминотрансфераза, Ед/л	64,6	16,3	68,1	18,1	19,0	23,1
Аланинаминотрансфераза, Ед/л	22,8	20,0	12,3	63,3	22,6	50,6

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ), Ед/л	1766,0	472,0	900,0	1468,0	929,0	743,9
--	--------	-------	-------	--------	-------	-------

В таблице 1 представлена динамика показателей биохимического исследования крови, следует отметить гипербилирубинемия в большинстве случаев за счет непрямой фракции, что свидетельствует о внутрисосудистом гемолизе. Динамика уровня ЛДГ отражает выраженность гемолиза при ПНГ, значения данного показателя превышают верхнюю границу нормы от 2 до 8 раз.

В таблице 2 представлено изменение показателей общеклинического анализа крови.

Таблица 2

Общеклинический анализ крови

Показатели	24.08. 18	01.09. 18	12.12. 19	20.12. 19	02.09. 20	10.12. 20	13.12. 20	30.12. 20	19.01. 21
Эритроциты, 10¹²	1,9	3,6	2,0	4,3	2,0	2,1	2,43	3,4	2,7
Гемоглобин, г/л	63	118	75	142	71	76	88	106	82
Цветовой показатель	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,1	1,0	0,9	0,9
Ретикулоциты %	52	47	75	16	54	60	15	12	40
Тромбоциты, 10⁹	57	76	40	51	40	42	48	51	35
Лейкоциты, 10⁹	2,0	5,8	1,3	2,0	1,4	5,0	3,8	1,6	4,3
палочкоядер ные, %	6	5	3	8	6	10	3	4	18
сегментоядер ные, %	22	55	25	50	61	30	35	55	59
лимфоциты, %	56	34	64	34	28	54	48	33	16
моноциты, %	14	6	8	8	5	6	14	8	7
СОЭ, мм/ч	28	30	30	10	15	20	22	22	24

Следует отметить прямую положительную связь между улучшением показателей крови и проведенной терапией экулизумабом 900 мг, и в то же время нестойкость достигнутых изменений с последующим обострением процесса.

Исследование анализа мочи представлено в таблице 3.

Таблица 3

Общий анализ мочи

Показатели	29.08.18	12.12.19	02.09.20	28.10.20	10.12.20	29.12.20	20.01.21
Белок, г/л	-	0,03	0,11	-	0,3	0,04	0,14
Удельный вес	1020	1015	1010	1013	1013	1013	1020
Лейкоциты, в п/з	2-4	0-1	1-2	1-2	3-5	4-9	6-8
Эпителий, в п/з	1-2	1-2	15-18	4-6	2-4	0-1	0-1
Эритроциты, в п/з	0	1-2	1-2	1-2	4-6	1-2	2-4

Изменения в общем анализе мочи неспецифичны, некоторые нарушения функции почек возможны при ПНГ, что может быть обусловлено тромбозом микроциркуляторного русла почек, что впоследствии приводит к хронической ишемии, атрофии и склерозу почечной ткани и клиническому развитию хронической болезни почек.

Пациентке было проведено следующее лечение.

Экулизумаб 900 мг внутривенно капельно для купирования синдрома пароксизмальной ночной гемоглобинурии. Данный препарат является единственным лекарственным средством, зарегистрированным в реестре и применяемым в качестве патогенетической терапии ПНГ. Он представляет собой ксеногенные, моноклональные антитела к C5 компоненту системы комплемента. Способен блокировать разделение компонента C5 на C5a и C5b, в результате чего не образуется мембраноатакующий комплекс и комплемент-опосредованный внутрисосудистый гемолиз невозможен [11].

Также была произведена трансфузия лейкоцитредуцированной эритроцитарной массы. Группа крови A(II) Rh⁺ фенотип эритроцитов C-c+D+E+e-k-. Пробы на индивидуальную и биологическую совместимость отрицательные. Осложнений во время переливаний компонентов донорской крови не было. Состояние пациентки после проведенной манипуляции удовлетворительное.

Эффективность терапии заключалась в нормализации уровня гемоглобина, уменьшении ретикулоцитоза, купировании проявлений анемического синдрома, снижении уровня ЛДГ в 1,5 раза, отсутствии потребности в гемотрансфузиях.

Выписана на амбулаторное лечение со следующими рекомендациями: контроль анализов крови еженедельно, с очередным введением экулизумаба в дозе 900 мг через 14 дней.

Заключение

Клинические признаки апластической анемии проявляются в раннем возрасте, диагноз подозревается на основании общего анализа крови и доказывается на основании морфологических методов исследований: трепанобиопсии костного мозга и миелограммы. Некоторые затруднения возникают при сочетанно протекающих эпизодах пароксизмальной ночной гемоглобинурии, проявляющихся гемолитической анемией, надпеченочной желтухой. Доказать диагноз позволяет определение GPI-связанных гликопротеинов на поверхности эритроцитов (CD59), нейтрофилов (CD24/FLAER), моноцитов (CD14/FLAER) методом проточной цитометрии.

Лечение апластической анемии начинают со специфической иммуносупрессивной терапии, при выраженном анемическом синдроме используют заместительную гемотранфузионную терапию. Главенствующее положение в патогенетической терапии ПНГ занимает экулизумаб.

Положительный эффект от терапии экулизумабом, хотя и непродолжительный по времени у данной пациентки, заключается в устранении или снижении выраженности клинических проявлений, таких как слабость, одышка, достижении уровня целевых значений в картине крови (купирование гемолиза, повышение уровня гемоглобина, уменьшение сывороточной концентрации билирубина, лактатдегидрогеназы), исчезновении гемотранфузионной зависимости.

В настоящее время проводятся испытания других препаратов группы, еще не прошедших регистрацию в реестре лекарственных средств. Такая терапия не приводит к полному выздоровлению или стойкой ремиссии, однако позволяет повысить качество жизни, предотвратить развитие фатальных жизнеугрожающих тромботических осложнений и улучшить прогноз у больных ПНГ. Таким образом, вопрос о разработке других способов лечения ПНГ остается актуальным.

Список литературы

1. Afable M.G. Clonalevolutioninaplastic anemia. Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program. 2011. Vol. 2011. P. 90–95.
2. Scheinberg P. How I treat acquired aplastic anemia. Blood. 2012. Vol. 120. no 6. P. 1185–1196.
3. Zeng Y. The complex pathophysiology of acquired aplastic anaemia. Clin. Exp. Immunol. 2015. Vol. 180. no. 3. P. 361–370.
4. Bessler M., Hiken J. The pathophysiology of disease in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program. 2008. P. 104–110.
5. Brodsky R.A. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood. 2014. no. 124 (18) P. 2804-2811.

6. Tegla C.A., Cudrici C., Patel S., Trippe R. Membrane attack by complement: the assembly and biology of terminal complement complexes. *Immunol. Res.* 2011. Vol. 51. no. 1. P. 45–60.
7. Noris M., Remuzzi G. Overview of complement activation and regulation. *Semin. Nephrol.* Elsevier. 2013. Vol. 33. no. 6. P. 479–492.
8. Hill A., Kelly R.J., Hillmen P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood.* 2013. Vol. 121. no. 25. P. 4985–4996.
9. Brodsky R.A. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood.* 2014. Vol. 124. no. 18. P. 2804–2811.
10. Serna M., Giles J., Morgan B.P., Budeck D. Structural basis of complement membrane attack complex formation. *Nat. Commun. Nature Publishing Group.* 2016. Vol. 7. P. 1–7.
11. Кудлай Д.А., Бакиров Б.А., Павлов В.Н. Современные и разрабатываемые биотехнологические препараты для лечения патологии системы комплемента при пароксизмальной ночной гемоглобинурии // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020. Т. 19. № 3. С. 164-172.