

УДК 616.633.963.42-039.13-039.31-07

МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ПАРОКСИЗМАЛЬНОЙ НОЧНОЙ ГЕМОГЛОБИНУРИИ **Аникаева А.Е.**

ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, Пермь

Пермь, Россия (614990, г.Пермь, ул.Петропавловская, д.26) anikaevaa@list.ru

Частота встречаемости ночной пароксизмальной гемоглобинурии (ПНГ) составляет всего 1-2 случая на миллион. Несмотря на то, что с анемическими синдромами сталкивается врач любой практики, пациенты с болезнью Маркиафа часто обращаются в отделение нефрологии. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия сопровождается острым повреждением почек, вызванный гемосидерозом. Последние 10 лет возможности лабораторной диагностики достигли высоких результатов. Появилась возможность диагностики редких форм анемии, в частности ПНГ. В данной статье рассмотрим основные направления диагностики пароксизмальной ночной гемоглобинурии.

Ключевые слова: пароксизмальная ночная гемоглобинурия, диагностика, клон, проточная цитометрия

METHODS OF PAROXYSMAL NOCTURNAL HEMOGLOBINURIA DIAGNOSTIC **Anikaeva A.E.**

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Academician Ye.A.Vagner Perm State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Perm Perm, Russia (614990, Perm, Petropavlovskaya st., 26), anikaevaa@list.ru

The incidence of nocturnal paroxysmal hemoglobinuria (APG) is only 1-2 cases per million. Despite the fact that anemic syndromes are encountered by a doctor of any practice, patients with Marciac's disease often go to the Department of nephrology. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria is accompanied by acute kidney damage caused by hemosiderosis. Over the past 10 years, the capabilities of laboratory diagnostics have achieved high results. It is possible now to diagnose rare forms of anemia, in particular APG. In this article we will consider the main directions of diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.

Key words: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, diagnosis, cloning, flow cytometry

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия - редкое приобретенное заболевание крови, характеризующееся разрушением эритроцитов системой комплимента. Проявляется хроническим внутрисосудистым гемолизом, костномозговой недостаточностью, повышенным риском развития тромботических осложнений, почечной недостаточности и лёгочной гипертензии.

Впервые это редкое заболевание было описано в 1882 году и постоянно вызывало интерес у врачей, так как патогенез данного заболевания не был изучен до конца. До недавнего времени ПНГ считалось серьезным заболеванием с негативным прогнозом. В 2007 году на фармацевтическом рынке появляется препарат «Солирис». С появлением этого препарата лечение ПНГ стало возможным, так как рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело в данном препарате связывается с белком C5 системы комплимента. Это приводит к тому, что данный белок C5 ингибирует его расщепление до C5a и C5b, что предотвращает образование терминального комплекса комплемента C5b-9 в нейромышечных соединениях [1].

Патогенез данного заболевания заключается в том, что в стволовой клетке крови происходит соматическая мутация гена (PIG – A), которая локализована на X-хромосоме. Мутация приводит к дефициту гликозилфосфатидилинозитоловой (GPI) липидной структуры, которая фиксирует широкий спектр белков на мембранах клеток крови. Мутация может возникать как в одной, так и в нескольких стволовых клетках крови. Если происходит отсутствие GPI, в частности CD55 и CD59, наступает нарушение регуляции системы комплимента, формируются клетки, подверженные хроническому внутрисосудистому комплемент-обусловленному лизису.

Система комплимента — это часть врожденного иммунитета, имеющего два этапа развития: проксимальный и дистальный или терминальный.

Проксимальный имеет три основных пути активации комплимента: классический, альтернативный и лектиновый, которые в свою очередь приводят к активизации C3 – конвертазы в системе комплимента, которая способствует дифференцировке C3 компонента на C3a и C3b. C3-конвертаза представляет собой комплекс из C4b и C2a (в случае классического пути) или из C3b и Bb (в случае альтернативного пути).

C3b отвечает за активацию C5-ковертазы и синтез и дифференцировку C5 на C5a и C5b. В норме при дифференцировке за счет всех необходимых белков и ферментов образуется комплекс состояний. При патологии происходит деструкция клеток и вследствие работы мембраноатакующего комплекса образуется тромбоз.

Активность системы комплемента контролируется ингибиторами в плазме крови, блокирующими избыточную реакцию [2,4].

Ингибиторами выступают белки-регуляторы на мембране CR1, DAF, CD55 и CD46. А активаторы в свою очередь делятся на внешние – инфекционные агенты, хирургические вмешательства, травмы и внутренние – беременность, аутоиммунные процессы, стресс.

Процесс, при котором ингибиторы и активаторы находятся в равновесии, считается нормальным. В случае пароксизмальной ночной гемоглобинурии, если начинается генетический дефицит ингибиторов, то возможен пожизненный риск развития системной комплимент-зависимой тромботической микроангиопатии (ТМА). В норме на мембране эритроидной клетки отмечают белки CD59 и CD55. Белок CD59 защищает эритроциты от комплимент-индуцированного лизиса и блокирует сборку мембраноатакующего комплекса. Белок CD55 вызывает нестабильность C3-конвертазы, подавляет активацию комплимента на раннем этапе.

Если этих белков нет, то происходит потеря экспрессии GPI – связанных белков (CD55, CD59) на гемопоэтических клетках и их потомках.

При пароксизмальной ночной гемоглобинурии наблюдается сосуществование мутантного (GPI-) и «нормального» (GPI+) гемопоэза [2].

Такое состояние может протекать с другими клиническими вариантами недостаточности кроветворения, например, апластическая анемия и миелодиспластический синдром. Основная причина смертности при ПНГ - хронический гемолиз. Истощение NO приводит к образованию тромбозов. Среди них отмечают интраабдоминальные венозные тромбозы, ТЭЛА и артериальные.

К особенностям ПНГ-клонов относится отсутствие признаков малигнизации. Этот процесс не имеет активного роста и развития. У многих больных ПНГ-клон остается стабильным в течение многих лет с сохранением нормальной дифференцировки. В ряде случаев ПНГ-клон может спонтанно исчезнуть. Риск трансформации классического ПНГ в острый миелоидный лейкоз не превышает 1-3%.

Ранняя диагностика ПНГ играет важнейшую роль в своевременном назначении эффективного лечения. Основным методом является высокочувствительная проточная цитометрия на наличие ПНГ-клона в ПК. Проточная цитометрия может определить неточный диагноз, если исследование будет проведено в период гемотрансфузии. Так как во время трансфузии увеличивается количество эритроцитов с нормальной экспрессией CD59 и CD55. Анализ дефицита белков GPI-AP рекомендуется проводить как на эритроцитах, так и на лейкоцитах, поскольку при ПНГ эритроциты лизируются под действием комплемента, изменяя общий размер клона. Данный метод диагностики определяет не только популяцию клеток с дефицитом GPI-связанных белков, но и процент клеток с патологией. Диагностику

рекомендуется делать 1-2 раза в год, даже при отсутствии клинико-лабораторных признаков гемолиза [5].

Клиническая картина пациента с пароксизмальной ночной гемоглобинурией

Пациент М.Я.В., 1993 года рождения

Диагноз: Приобретенная идиопатическая апластическая анемия, сверхтяжелая форма.

Курс комбинированной иммуносупрессивной терапии (тимоглобулин-22.01-26.01.16 г.) + циклоспорин А). Аллогенная родственная трансплантация костного мозга (14.06.16 г.).

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (12.2015 г.).

Хронический внутрисосудистый гемолиз.

Осложнения: Транзиторная лекарственная нефротоксичность (ЦсА). Вторичный гемосидероз.

В гемограмме эритроциты $1,32 \cdot 10^{12}/л$, ретикулоциты 72,5 %, сфероцитоз, агрегация эритроцитов, гемоглобин 49 г/л, тромбоциты $16 \cdot 10^9/л$, лейкоциты $2,66 \cdot 10^9/л$, палочкоядерные 1 %, сегментоядерные 4 %, лимфоциты 87 %, моноциты 7 %, СОЭ 52 мм/ч. Миелограмма: пунктат значительно сниженной клеточности. Мегакарициты в пунктате не найдены. Бластов нет. Проба Кумбса (прямая, непрямая) – отрицательная. В биохимическом анализе крови: Лактатдегидрогеназа- 1194,0 Ед/л (N до 450 Ед/л), билирубин общий 22,2 ммоль/л (прямой — 5,6 ммоль/л, непрямой 16,6 ммоль/л). Трепанобиопсия: изменения отражают гипоплазию костномозгового кроветворения. ПНГ-клон выявлен: среди гранулоцитов (FLAER-CD24) – 52,72 %, среди моноцитов (FLAER-CD14) – 58 %, на эритроцитах 11 % [3].

Таким образом, пароксизмальная ночная гемоглобинурия (болезнь Маркиафавы Микели) – приобретенное клональное нарушение гемопоэтических стволовых клеток, характеризующееся нестабильностью клеточных мембран и их высокой чувствительностью к комплементу. В основе патогенеза пароксизмальной ночной гемоглобинурии лежат приобретенные соматические мутации (известны 174 соматические мутации) в гемопоэтических стволовых клетках. Почти все больные ПНГ имеют молекулярные повреждения в зоне PIG-A гена (Phosphatidyl Inositol Glycan complementation group A), который локализован на X хромосоме (Xp22.1). Продукт гена PIG-A необходим на ранних этапах синтеза гликозилфосфатидинозитольных структур, которые служат «якорем» для групп поверхностных протеинов, участвующих в поддержании трансмембранной конфигурации белков и защите клетки от компонентов комплемента. Дефицит GPI-якорных протеинов приводит к потере белков (CD59+ и др), которые ингибируют (C5-C9 компоненты комплемента), что приводит к повышенному разрушению клеток крови и костного мозга.

Клинические симптомы у больных с пароксизмальной ночной гемоглобинурией зависят от степени вовлечения мегакариоцитарного и гранулоцитарного ростков и степени внутрисосудистого гемолиза, гемоглобинемии, гемоглобинурии. Классическая триада: гемолитическая анемия, панцитопения, тромбозы.

Список литературы

1. Алексеев Г.А; Н. М. Неменова (пат. ан.), А. Ф. Тур (пед.) и др. Анемия // Большая медицинская энциклопедия: в 30 т. / гл. ред. С. 110-113
2. Кузнецова Е.Ю., Сырцева Е.Б., Ольховик Т.И. и др. Клинический случай успешного лечения пациентки с апластической анемией и пароксизмальной ночной гемоглобинурией с применением препарата Солирис в пред- и посттрансплантационном периоде // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 5.; С. 18
3. Луговская С.А., Морозова В.Т., Почтарь М.Е. и др. «Лабораторная гематология», Москва, 2006г. С.33-41
4. П. Ф. Литвицкий. Патология системы эритроцитов (рус.) // Вопросы современной педиатрии : Лекция. — 2015. — 28 августа (№ 14). — С. 450—463.
5. Черешнев В. А., Шилов Ю. И., Гуляева И. Л., и др. Экспериментальные модели в патологии: учебник - Перм.гос. ун-т. - Пермь, 2011. - 267 с.
6. Чеснокова Н. П., Невважай Т. А., Моррисон В. В. и др. Лекция 2. Анемии: классификация, общая характеристика гематологических сдвигов. Постгеморрагические анемии (рус.)// Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. — 2015. — № 6—1. — С. 152—155.