

ХРОНИЧЕСКИЙ ГЕПАТИТ ИЛИ «МАСКА» ПАРОКСИЗМАЛЬНОЙ НОЧНОЙ ГЕМОГЛОБИНУРИИ?

Д.А. Долгополова¹, Е.Е. Зинина², Ю.А. Седлова²

¹Кафедра госпитальной терапии БУ ВО Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет»; Россия, 628412, Сургут, пр-т Ленина, 1;

²БУ Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутская окружная клиническая больница»; Россия, 628408, Сургут, ул. Энергетиков, 14

Контакты: Диана Анатольевна Долгополова diana100187@yandex.ru

Цель исследования – описание случая диагностики пароксизмальной ночной гемоглобинурии (ПНГ).

Материалы и методы. Больной, 50 лет, обратился за медицинской помощью с жалобами на появление желтушности склер и кожи, потемнение мочи, невыраженную общую слабость. Были проведены обследования: клинический и биохимический анализы крови и мочи, миелограмма, определение индекса сферичности эритроцитов, свободного гемоглобина плазмы крови и мочи, гемосидеринурии, иммунофенотипирование крови методом проточной цитометрии; исследование иммунологических маркеров ревматических заболеваний; инструментальное обследование и др.

Результаты. На основании жалоб, клинической картины заболевания, данных объективного и инструментального обследований поставлен заключительный диагноз: ПНГ, классическая гемолитическая форма, кризовое течение (по Международной классификации болезней 10-го пересмотра D 59.5). Сопутствующие диагнозы: вторичная анемия тяжелой степени; трансфузионная зависимость; тромбоз подключичной вены справа (с ноября 2011 г.); желчекаменная болезнь; хронический калькулезный холецистит, ремиссия; хронический гепатит смешанного генеза (алкогольный, метаболический), умеренной степени активности. Основным способом верификации диагноза было иммунофенотипирование крови методом проточной цитометрии. Его результаты: эритроциты I типа (нормальная экспрессия CD59) – 87,0 %, II типа (частичный дефицит CD59) – 0,3 %, III типа (полный дефицит CD59) – 12,7 %; моноциты с дефицитом FLAER/CD14 – 93,3 %; гранулоциты с дефицитом FLAER/CD24 – 97,7 %. Иммунофенотипирование выявило наличие ПНГ-клона среди эритроцитов, гранулоцитов и моноцитов. С учетом огромного размера клона (на гранулоцитах 97,7 %) можно сделать вывод о том, что больной находился в зоне риска ПНГ-кризов.

Заключение. Практический интерес этого клинического случая обусловлен редкостью данного гематологического заболевания, анализом современных возможностей диагностики и сложностью выбора тактики лечения. В качестве терапии, позволившей уменьшить количество гемолитических кризов, применялся экулизумаб.

Ключевые слова: анемия, внутрисосудистый гемолиз, желтуха, тромбоз, гепатит, пароксизмальная ночная гемоглобинурия, проточная цитометрия, экулизумаб, гемотрансфузия, система комплемента

DOI: 10.17650/1818-8338-2015-9-2-48-52

CHRONIC HEPATITIS OR «DISGUISE» PAROXYSMAL NOCTURNAL HEMOGLOBINURIA?

D.A. Dolgoplova¹, E.E. Zinina², Yu.A. Sedlova²

¹Department of hospital therapy, Khanty-Mansi Autonomous Area – Yugra «Surgut State University»; 1 Prospekt Lenina, Surgut, 628412, Russia;

²Budgetary Institution of Khanty-Mansi Autonomous Area – Yugra «Surgut District Clinical Hospital»; 14 Energetikov St., Surgut, 628408, Russia

Objective is description of a case of diagnostics of a paroxysmal nocturnal haemoglobinuria.

Subjects and methods. The male patient of 50 years asked for medical care with complaints to emergence of yellowness a skin, urine darkening, not expressed general weakness. To the patient examination was conducted: clinical and biochemical blood tests, urine, myelogram, definition of an index of sphericity of erythrocytes, definition of free hemoglobin of plasma of blood, urine, hemosiderinuria, flow citometry, immunological markers of rheumatic diseases, tool inspection, etc.

Results. On the basis of complaints, a clinical picture of a disease, data of objective and tool inspections the final diagnosis is made: a paroxysmal nocturnal haemoglobinuria, a classical haemolytic form (on the International classification of diseases of the 10th revision – B 59.5). The comorbid diagnoses: anemia of heavy degree; transfusion dependence; thrombosis of a subclavial vein on the right (11.2011); cholelithiasis; chronic calculous cholecystitis in remission; chronic hepatitis of the mixed genesis (alcoholic, metabolic), moderate degree of activity. By the main diagnostic method which allowed to verify the diagnosis became flow citometry. According to an flow citometry erythrocytes I Tip (normal expression of CD59) – 87,0 %, II Type (partial deficiency of CD59) – 0,3 %, III Type (full deficiency of CD59) – 12,7 %; monocytes with deficiency of FLAER/CD14 – 93,3 %; granulocytes with deficiency of FLAER/CD24 – 97,7 %. Flow citometry was re-

vealed by availability of APG-clone among erythrocytes, granulocytes and monocytes. Judging by the huge size of a clone (on granulocytes 97,7 %), it is possible to draw a conclusion that the patient was in the highest zone of risk of APG of crises.

Conclusion. Practical interest of this supervision is caused by a rarity of this hematologic disease, the analysis of modern opportunities of diagnostics and complexity of a choice of tactics of treatment. The medicinal therapy which allowed to reduce quantity of haemolytic crises — application of a preparation eculizumab is picked up.

Key words: anemia, intra vascular hemolysis, jaundice, thrombosis, hepatitis, paroxysmal nocturnal haemoglobinuria, flow cytometry, eculizumab, hemotransfusion, system of a complement

Введение

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) является одним из известных заболеваний, которое имеет характерный клинический симптом — темный цвет мочи в ночной период.

Зачастую внимание врачей привлекает не данный патогномичный признак, а другие проявления, такие как боли в животе, желтуха, рецидивирующие тромбозы и анемия, что приводит к дифференциально-диагностическим ошибкам, несвоевременной постановке верного диагноза и запоздалому лечению.

ПНГ — редкая форма приобретенной гемолитической анемии, связанная с изменением структуры эритроцитов, нейтрофилов, тромбоцитов и протекающая с признаками внутрисосудистого гемолиза, при котором наблюдаются гемоглобинурия, гемосидеринурия, повышение свободного гемоглобина плазмы крови. Название ПНГ мало соответствует сути заболевания, так как при нем нет ни пароксизмов, ни обязательной гемоглобинурии [1].

Эпидемиология. ПНГ обычно диагностируется у пациентов в возрасте 20–40 лет, но может встречаться и у пожилых [2, 3].

Историческая справка. Впервые ПНГ была описана P. Strubing в 1882 г., который заметил связь между назначением железа и развитием гемоглобинурии. E. Marchiafava и A. Nazari в 1911 г. и F. Micheli в 1931 г. уточнили клиническую картину заболевания. В 1964 г. S. Yachnin обратил внимание на роль фракции C3-комплемента в процессе распада эритроцитов при ПНГ [4].

Этиопатогенез. В основе патогенеза лежит соматическая мутация в стволовых кроветворных клетках гена *PIG-A* (*phosphatidylinositol glycan complementation class A*), располагающегося на X-хромосоме и ответственного за синтез гликозилфосфатидилинозитолового (ГФИ) якоря [5–7]. В результате развивается хронический внутрисосудистый гемолиз. Дефект мембраны эритроцитов обусловлен нарушением синтеза гликолипида, который «заякоривает» в мембране эритроцита множество взаимодействующих с компонентом белков: протектин (CD59, ингибитор мембраноатакующего комплекса), фактор ускорения распада (CD55) и C8-связывающий белок, а также CD58, щелочная фосфатаза и низкоаффинный рецептор Fc-фрагмента IgG (FcγRIII) [6, 8–10], CD14, CD16 и др. [11]

Клиническая картина и диагностика. Клиническое течение ПНГ вариабельно — от мягкого доброкачественного до агрессивного [2] в виде гемолитических кризов, которые могут провоцироваться повышенной физической нагрузкой, инфекциями, вакцинациями, приемом некоторых препаратов (аскорбиновой кислоты, препаратов железа и гепарина) и т. д. [5]. Приступы боли в животе — типичный признак заболевания, который, вероятно, связан с тромбозом мезентериальных сосудов [1]. У многих пациентов наблюдаются рецидивирующие венозные тромбозы [8]. Главную роль в патогенезе тромботических осложнений приписывают внутрисосудистому распаду эритроцитов и стимуляции свертывания факторами, освобождающимися из клеток при их распаде [1]. Примерно в 15 % случаев начало ПНГ характеризуется появлением апластической анемии [1, 4]. При классической форме гемолиз происходит в период сна больного (ночная гемоглобинурия — выделение мочи черного цвета ночью), что может быть обусловлено небольшим уменьшением ночью pH крови [2] и активизацией пропердиновой системы [5]. Число лейкоцитов при ПНГ снижено из-за уменьшения количества нейтрофилов [1], которые также обладают повышенной чувствительностью к литическому действию комплемента. Нарушена функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов со снижением способности к фагоцитозу, хемотаксису. В связи с этим пациенты подвержены различным инфекционно-воспалительным заболеваниям [5]. С помощью электронного микроскопа установлено изменение мембраны эритроцитов, состоящее в появлении небольших пятен, отверстий или расщелин [4]. Результаты морфологического исследования костного мозга зависят от того, на каком этапе находится заболевание. На 1-м этапе наблюдается богатый и полиморфный костный мозг с отчетливой гиперплазией красного ростка, на 2-м — появляются очаги опустошения и наступает диффузная аплазия. [8]. В целях диагностики используют тест Хэма (Th. H. Ham) и сахарозный тест Гартмана (E. Hartmann) [2]. Диагноз подтверждается также выявлением мутации гена *PIG-A* и изучением экспрессии ГФИ-связанных протеинов на клетках крови [11] методом проточной цитометрии с моноклональными антителами к ГФИ-якорным протеинам (иммунофенотипирование). Ранним и достоверным признаком ПНГ-фенотипа

является экспрессия ГФИ-связанных протеинов: экспрессию CD14 и CD48 определяют на моноцитах, CD16 и CD66b — на гранулоцитах, CD48 и CD52r — на лимфоцитах, CD55 и CD59 — на эритроцитах, CD55, CD58 и CD59 — на тромбоцитах [5].

Дифференциальная диагностика. Дифференциальную диагностику проводят с другими видами гемолитических анемий, остальными видами гемоглобинурии, бирмеровской анемией, а при цитопеническом варианте ПНГ — с апластической анемией [2, 5]. Особое внимание при диагностике следует уделять острой хирургической патологии (тромбоз мезентериальных сосудов и др.) [4], наличию образований в желудочно-кишечном тракте и заболеваниям почек [1]. В литературе описаны операции у больных ПНГ в связи с подозрением на острый аппендицит, желчекаменную болезнь, язву желудка, вплоть до гастрэктомии [1]. ПНГ следует заподозрить у пациентов с необъяснимым гемолизом в анамнезе, склонностью к цитопении и костно-мозговой гипоплазии, тромботическими эпизодами [5].

Лечение. Основным методом лечения долгое время являлась симптоматическая гемозаместительная терапия [1]. Предпринимались попытки лечения больных антицитотоксическим глобулином, эффект от которого был неполным и нестойким. Имеются сведения о положительном опыте применения циклоспорина А [5]. Спленэктомия практически не приносит улучшения при ПНГ [1]. Единственным радикальным средством терапии считается трансплантация костного мозга [5]. На сегодняшний день в мире для лечения ПНГ применяют препараты на основе экулизумаба. CD55+ регулирует образование и стабильность C3- и C5-конвертаз, в то время как CD59+ блокирует формирование мембраноатакующего комплекса, состоящего из компонентов C5b, C6, C7, C8 и нескольких молекул C9. Экулизумаб является человеческим моноклональным антителом к компоненту комплемента C5, который, предотвращая его активацию и превращение в C5b, препятствует образованию мембраноатакующего комплекса и гемолизу эритроцитов [12, 13].

Прогноз ПНГ зависит от характера ее течения: частоты и тяжести гемолитических кризов, наличия осложнений [5]. Средняя медиана выживаемости — 10 лет. В редких случаях наблюдается полная ремиссия и выздоровление, что говорит о возможности полного обратного развития процесса [1]. Заболевание может трансформироваться в острый лейкоз или миелодиспластический синдром [2, 5, 14, 15].

Описание случая

Больной, 50 лет, в ноябре 2010 г. поступил в приемное отделение стационара с жалобами на желтушность склер, кожных покровов, потемнение мочи, невыраженную общую слабость, которые появились незадолго (около 2 нед) до госпитализации. Усиление желтушности стало поводом для обращения в стационар.

Из анамнеза известно, что пациент злоупотреблял алкоголем. Был госпитализирован в гастроэнтерологическое отделение с диагнозом хронический гепатит алкогольного генеза. В рамках дифференциальной диагностики синдрома желтухи были исключены вирусные гепатиты, онкопатология. При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости был обнаружен конкремент в желчном пузыре до 15 мм, что могло бы служить причиной развития механической желтухи, однако конкремент был неподвижным, данных об обструкции желчевыводящих путей не было, и типичного приступа печеночной колики в анамнезе у больного не наблюдалось. В общем анализе крови отмечалась макроцитарная (средний объем эритроцитов — 114 фл), гиперхромная (среднее содержание гемоглобина в эритроците — 34,4 пг) анемия (уровень гемоглобина — 74 г/л), умеренно выраженный лейкоцитоз ($16 \times 10^9/\text{л}$) со сдвигом лейкоцитарной формулы влево (палочкоядерные нейтрофилы — 12 %). Сывороточное железо составило 20,17 мкмоль/л (норма 10,7–28 мкмоль/л). По данным биохимического анализа крови выявлены гипербилирубинемия (общий билирубин — 50,3 ммоль/л, прямой билирубин — 7,7 ммоль/л) и гиперферментемия (аланинаминотрансфераза — 50 Ед/л, аспартатаминотрансфераза — 54 Ед/л, лактатдегидрогеназа (ЛДГ) — 1026 Ед/л). Уровень витамина B_{12} в крови — 200 пг/мл (норма 200–1000 пг/мл). Данные изменения были расценены как проявления B_{12} -дефицитной анемии с учетом алкогольного генеза хронического гепатита. Пациенту была рекомендована заместительная терапия витамином B_{12} и фолиевой кислотой, на фоне которой наблюдалась слабopоложительная динамика в виде уменьшения желтушности кожи, склер и увеличения уровня гемоглобина до 84 г/л.

После выписки сохранялась желтушность склер и кожных покровов. При этом больной отмечал периодическое появление мочи черного цвета. Поскольку отсутствовал эффект от проводимой терапии, в марте 2011 г. он был повторно госпитализирован в стационар. Сохранялась макроцитарная и гиперхромная анемия с максимальными значениями уровня гемоглобина 93,5 г/л на фоне заместительной гемотрансфузионной терапии, лейкоцитоз до $22 \times 10^9/\text{л}$, также появился ретикулоцитоз до 5,8 %. По результатам биохимического анализа крови наблюдались гипербилирубинемия, преимущественно за счет фракции непрямого билирубина, и гиперферментемия. Индекс сферичности эритроцитов составил 2,3 (норма 3,4–3,9). Данные миелограммы были неспецифичны.

Характерная клиническая картина с выраженным синдромом желтухи, не сопровождающимся кожным зудом, а также данные лабораторных исследований свидетельствовали о наличии у пациента гемолитической анемии. В рамках определения аутоиммунного происхождения последней в ходе обследования были исключены ревматологические заболевания (антитела к ДНК — 4 МЕ/мл, волчаночный антикоагулянт — отрицатель-

ный, LE-клетки, ревматоидный фактор не обнаружены, антистрептолизин-О — 165 МЕ/мл, циркулирующие иммунные комплексы — 3 ЕД, иммуноглобулины А, М и G в норме и т. д.). При нормальном уровне витамина B₁₂ и фолатов в крови, отсутствии эффекта от заместительной терапии не подтвердилась B₁₂-фолиеводефицитная анемия на фоне алкогольного поражения печени. Значительное снижение индекса сферичности позволило предположить наличие у больного наследственной микросфероцитарной анемии.

В июне 2011 г. на фоне полного благополучия у пациента появились одышка, пульсация в ушах и он был повторно госпитализирован в стационар. Наблюдалось падение уровня гемоглобина до 53 г/л, нарастание ретикулоцитоза до 9,2 %, увеличение содержания ЛДГ до 2180 Ед/л. Данная симптоматика соответствовала клинической картине гемолитического криза. Неоднократно были получены отрицательные результаты определения свободного гемоглобина плазмы крови и мочи, гемосидерина в моче. Повторные резкие ухудшения состояния в виде усиления желтушного синдрома, лихорадки и выраженных признаков гипоксемии больной отмечал в июле и августе 2011 г. Во время нахождения в стационаре зарегистрированы тромбоз подключичной вены справа, а также гемосидеринурия.

Рецидивирующие гемолитические кризы, гемосидеринурия, тромбоз подключичной вены, исключение аутоиммунной и апластической анемии позволили предположить наличие у пациента приобретенной гемолитической анемии — ПНГ. Для подтверждения этого заболевания было проведено иммунофенотипирование крови методом проточной цитометрии. По его данным: эритроциты I типа (нормальная экспрессия CD59) — 87,0 %, II типа (частичный дефицит CD59) — 0,3 %, III типа (полный дефицит CD59) — 12,7 %; моноциты с дефицитом FLAER/CD14 — 93,3 %; гранулоциты с дефицитом FLAER/CD24 — 97,7 %. Иммунофенотипирование выявило наличие ПНГ-клона среди эритроцитов, гранулоцитов и моноцитов. С учетом огромного размера клона (на гранулоцитах 97,7 %) можно сделать вывод о том, что больной находился в крайне высокой зоне риска ПНГ-кризов, а значительная разница в клоне между гранулоцитами и эритроцитами, скорее всего, была обусловлена массивным гемолизом последних. Таким образом, подтвердилось наличие у пациента классической формы ПНГ с выра-

женным внутрисосудистым гемолизом (анемия, ретикулоцитоз, повышение уровня ЛДГ), костно-мозговой недостаточностью и тромботическими осложнениями. Заболевание имело тяжелое прогрессирующее течение с развитием трансфузионной зависимости, тромбозов.

На протяжении 3 лет пациент регулярно проходит стационарное лечение по поводу тяжелой степени анемии и гемолитических кризов, получает заместительную терапию компонентами крови, а также экулизу-мабом.

Обсуждение

Необходимо отметить особенности данного клинического случая. Несмотря на нехарактерный для ПНГ возраст больного (50 лет), у него были зарегистрированы патогномоничные симптомы болезни: моча черного цвета, гемолитические кризы, тромбоз сосудов верхних конечностей. Патогномоничные лабораторные признаки (гемоглобинурия и гемосидеринурия) были обнаружены спустя несколько месяцев от начала заболевания после многократных ложноотрицательных результатов. Важно, что при наличии макроцитарной анемии индекс сферичности эритроцитов соответствовал микроцитозу, однако для ПНГ свойственна анемия с небольшими макроцитозом и полихроматофилией. Во время приступа ПНГ появляются шизоциты и нормобласты, но не микросфероциты. Микроцитоз характерен в случае, если больной теряет много железа с мочой в виде гемосидерина и гемоглобина [4], однако уровень сывороточного железа у данного пациента был в норме. В целом стоит отметить классическое течение заболевания. С учетом типичных клинических проявлений, а также результатов проведенного цитометрического исследования диагноз ПНГ не вызывает сомнений.

Заключение

Описанный случай подтверждает, что клинические проявления ПНГ напоминают привычные для нас нозологии, что приводит к затяжному дифференциально-диагностическому поиску и, как следствие, к отсроченному лечению основного заболевания. На это стоит обращать внимание при диагностике патологических состояний, сопровождающихся синдромом желтухи и анемией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьев А.И. Болезнь Маркиафавы—Микели (пароксизмальная ночная гемоглобинурия). Руководство по гематологии. Т. 2. М.: Медицина, 1985. С. 121—9. [Vorobiev A.I. Disease Markiafavy—Micheli (paroxysmal nocturnal haemoglobinuria).

Manual of Hematology. Vol. 2. Moscow: Meditsina, 1985. P. 121—9. (In Russ.)].

2. Денхэм М.Д., Чанарин И. Болезни крови у пожилых. М.: Медицина, 1989. [Denham M.J., Chanarin I. Blood disorders

in the elderly. Moscow: Meditsina, 1989. (In Russ.)].

3. Dacie J.V., Lewis S.M. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: clinical manifestations, hematology and nature of the disease. Ser Hematol 1972;5(3):3—23.

4. Антонеску М., Апэтяну В., Берчану Шт. Клиническая гематология. Бухарест, 1985. [Antonescu M., Apetyanu V., Berchanu Sht. Clinical Hematology. Bucharest, 1985. (In Russ.)].
5. Абдулкадыров К.М. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (болезнь Маркиафавы—Микели). Гематология: Новейший справочник. СПб.: Сова, 2004. С. 294—9. [Abdulkadirov K.M. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (disease Markiafavy—Micheli). Hematology: The latest guide. Saint Petersburg, 2004. P. 294—9. (In Russ.)].
6. Dworacki G., Sikora J., Mizera-Nyczak E. et al. Flow cytometric analysis of CD55 and CD59 expression on blood cells in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Folia Histochem Cytobiol* 2005;43(2):117—20.
7. Cui W., Lin Q., Zhang Z. Phenotypic analysis of affected peripheral erythroid for CD59 in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Chin Med J (Engl)* 2002;115(2):206—8.
8. Хоффбранд В., Петит Дж. Гематология. Атлас-справочник. М.: Практика, 2007. 408 с. [Hoffbrand V., Petit J. Hematology. Atlas-guide. Moscow: Praktika, 2007. 408 p. (In Russ.)].
9. Maciejewski J.P., Rivera C., Kook H. et al. Relationship between bone marrow failure syndromes and the presence of glycoposphatidyl inositol-anchored proteindeficient clones. *Br J Haematol* 2001;115(4):1015—22.
10. Rosse W.F., Hillmen P., Schreiber A.D. Immune-mediated hemolytic anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2004;48—62.
11. Луговская С.А., Почтарь М.Е. Гематологический атлас. М.: ЭКСМО; СПб.: Сова, 2004, 242 с. [Lugovskaya S.A., Pochtar M.E. Hematology Atlas. Moscow: EXSMO; Saint Petersburg: Sova, 2004. 242 p. (In Russ.)].
12. Risitano A.M., Notaro R., Marando L. et al. Complement fraction 3 binding on erythrocytes as additional mechanism of disease in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria patients treated by eculizumab. *Blood* 2009;113(17):4094—100.
13. Parker C. Eculizumab for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Lancet* 2009;373(9665):759—67.
14. Вуд М.Э., Банн П.А. Секреты гематологии и онкологии. М.: Бином; СПб.: Невский диалект, 1997. 560 с. [Wud M.E., Bann, P.A. Secrets of Hematology and Oncology. Moscow: Binom; Saint Petersburg: Nevskiy dialekt, 1997. 560 p. (In Russ.)].
15. Андерсон Ш. Атлас. Гематология. М.: Логосфера, 2007. 608 с. [Anderson Sh. Atlas. Hematology. Moscow: Logosphaera, 2007. 608 p. (In Russ.)].