

Диагностика и лечение пароксизмальной ночной гемоглобинурии у детей: клинические наблюдения

В.Н. Тимофеева

ГУЗ «Ульяновская областная детская клиническая больница имени общественного и политического деятеля Ульяновской области Ю.Ф. Горячева»; Россия, 432011, Ульяновск, ул. Радищева, 42

Контактные данные: Валентина Николаевна Тимофеева vntimob8@mail.ru

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) у детей встречается реже, чем у взрослых, однако для клинической картины характерны те же симптомы и осложнения, что и у взрослой популяции пациентов. У детей наблюдаются хронический гемолиз, тромбозы, боли в животе, инфекционные осложнения, утомляемость, снижение качества жизни. При этом особенностью ПНГ у детей является преимущественное сочетание заболевания с нарушениями функции костного мозга (чаще всего апластической анемией) и относительная редкость гемоглобинурии, что может затруднять своевременную постановку диагноза. Исследование крови методом проточной цитометрии позволяет установить точный диагноз, а группы риска для выявления ПНГ определены в международных рекомендациях. Своевременная диагностика заболевания важна для выбора тактики лечения и прогноза заболевания, и приобретает особое значение с появлением возможности назначения патогенетической терапии лекарственным препаратом экулизумаб. Экулизумаб является гуманизированным моноклональным антителом, которое ингибирует активность системы комплемента и предотвращает развитие хронического внутрисосудистого гемолиза при ПНГ. В клинических исследованиях подтверждены эффективность и безопасность экулизумаба для лечения ПНГ как у взрослых, так и у детей. В статье представлен собственный опыт выявления и лечения 2 пациентов детского возраста с ПНГ на базе Областной детской клинической больницы г. Ульяновска.

Ключевые слова: пароксизмальная ночная гемоглобинурия, апластическая анемия, дети, ингибитор комплемента, экулизумаб

DOI: 10.21682/2311-1267-2016-3-4-77-80

Diagnosis and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in children: clinical cases

V.N. Timofeeva

Ulyanovsk Regional Children's Clinical Hospital named after a public and political figure of the Ulyanovsk region Yu.F. Goryachev; 42 Radishcheva St., Ulyanovsk, 432011, Russia

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) at children presents at children rarely in comparison with adults, but clinical presentation characterized by the same symptoms and complications like at the adult population of patients. Children present with chronic hemolysis, thrombosis, abdominal pain, infection complications, fatigue, decreasing of quality of life. In this case, the feature of PNH at children is predominant combination of diseases with bone marrow failure (most common, aplastic anemia) and relatively rare hemoglobinuria, what can complicate in-time diagnosing. Blood testing with the help of flow cytometry allows establishing diagnosis and risking groups for PNH determination presented in the international guidelines. In-time diagnostics of diseases is very important for treatment tactics chosen and prognosis, and gain the high importance with the appearance of possibility of pathogenetic therapy by eculizumab medication. Eculizumab is the humanized monoclonal antibody which inhibits the activity of complement system and prevents development of chronic intravascular hemolysis in case of PNH. Effectiveness and safety of eculizumab were proven in clinical studies both for children and adults. This article presents own experience of treatment of 2 children with PNH on the base of Ulyanovsk Regional Clinical Hospital.

Key words: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, aplastic anemia, children, complement inhibitor, eculizumab

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) — это редкое приобретенное клональное заболевание крови, распространенность которого составляет 8–16 случаев на 1 млн населения, а заболеваемость — 1,3 случая на 1 млн в год [1]. Причиной ПНГ является клональная экспансия гемопоэтических стволовых клеток с приобретенной соматической мутацией гена *PIG-A*, в норме кодирующего синтез углеводной части гликозилфосфа-

тидилинозитолового (ГФИ) якоря, который фиксирует ГФИ-связанные белки, в частности CD55 и CD59, на поверхности эритроцитов [2]. Выполняя роль ингибиторов комплемента, эти белки защищают эритроциты от комплемент-опосредованного гемолиза, блокируя формирование мембраноатакующего комплекса на поверхности клеток [3]. Отсутствие в результате мутации ГФИ-якоря и соответственно CD55 и CD59 на поверх-

ности эритроцитов приводит к развитию хронического комплемент-опосредованного внутрисосудистого гемолиза: для ПНГ характерны анемия, ретикулоцитоз, повышение уровня лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и непрямого билирубина, низкая концентрация сывороточного гаптоглобина, отрицательная проба Кумбса. Факторы, усиливающие активацию комплемента, — инфекции, хирургические вмешательства, интенсивная физическая нагрузка, трансфузии крови, могут провоцировать нарастание гемолиза и приводить к ухудшению состояния пациента [4].

Одним из наиболее опасных осложнений ПНГ являются тромбозы (венозные и артериальные) самой разнообразной, часто нетипичной локализации: вены нижних конечностей, печеночные, мезентериальные и другие вены, тромбоэмболия легочной артерии, нарушение мозгового кровообращения и инфаркт миокарда. Частота развития тромбоэмболических осложнений при ПНГ составляет 29–44 % [5, 6], а доля в структуре смертности достигает 67 % [7]. Тромбоз различных вен (печеночной, брыжеечной, портальной и др.) нередко предшествует развитию других проявлений заболевания [8]. Причины повышенного риска тромбообразования при ПНГ включают в себя активацию тромбоцитов, опосредованную комплементом, истощение уровня монооксида азота (NO) под действием свободного гемоглобина, эндотелиальную дисфункцию и активацию тромбина [7]. Падение концентрации NO, который связывается со свободным гемоглобином, также сопровождается дистонией гладких мышц и вазоконстрикцией, что вызывает нарушение микроциркуляции и определяет появление одышки, легочной гипертензии, дисфагии и болей в животе [7].

У 64 % пациентов с ПНГ развивается хроническая болезнь почек в результате токсического действия свободного гемоглобина, который вызывает накопление гемосидерина, тубулоинтерстициальное воспаление и повреждение почек [9]. Поражение почек обычно прогрессирует и в 8–18 % случаев является непосредственной причиной смерти больных ПНГ [10].

При подозрении на ПНГ метод проточной цитометрии позволяет установить точный диагноз [11]. Проточная цитометрия позволяет не только идентифицировать популяцию клеток с дефицитом ГФИ-связанных белков, но и определить процент патологических клеток и отдельные популяции с различной степенью дефицита ГФИ-связанных белков, особенно на эритроцитах. В таблице перечислены состояния, которые в современных рекомендациях рассматриваются как показания к скринингу на ПНГ [12].

ПНГ у детей встречается реже, чем у взрослых, тем не менее заболевание может развиваться в детском (чаще подростковом) возрасте [13]. Проявления ПНГ у детей сходны (хронический гемолиз, рецидивирующие тромбозы, недостаточность костного мозга, боль в животе,

Клинические проявления, требующие проведения скрининга на ПНГ

- Внутрисосудистый гемолиз — гемоглинурия или повышение уровня гемоглобина в плазме
- Необъяснимый гемолиз в комбинации с одним из следующих признаков:
 - дефицит железа
 - боли в животе
 - тромбоз
 - гранулоцитопения и/или тромбоцитопения
- Другая приобретенная Кумбс-негативная гемолитическая анемия (без шизоцитов в анализе крови, не связанная с инфекциями)
- Тромбоз с необычными проявлениями:
 - необычная локализация: печеночные вены (синдром Бадда–Киари), другие внутрибрюшные вены (портальная, селезеночная, чревная), церебральные синусы, кожные вены
 - признаки сопутствующей гемолитической анемии (см. выше)
 - необъяснимая цитопения
- Признаки недостаточности костного мозга:
 - предполагаемая или доказанная апластическая анемия (AA)
 - Миелодиспластический синдром (МДС): рефрактерная цитопения с 1, 2 или 3-линейной дисплазией, гипопластический вариант МДС
 - другие цитопении неясной этиологии

утомляемость и т. д.) с таковыми у взрослых. Особенностью течения заболевания у детей является гораздо более частое сочетание ПНГ с синдромом недостаточности костного мозга (AA, рефрактерная цитопения), в то время как гемоглинурия отмечается реже, поэтому диагноз зачастую устанавливают с опозданием. Тромбозы развиваются примерно у каждого 5-го ребенка с ПНГ [14].

Приводим 2 клинических наблюдения ПНГ, диагностированной в подростковом возрасте.

Больная С., 12 лет, впервые поступила в отделение гематологии 04.06.2009 с жалобами на слабость, вялость, желтушность кожи и склер, потемнение мочи. При обследовании выявлены анемия (гемоглобин — 79 г/л, эритроциты — $2,8 \times 10^{12}/л$), ретикулоцитоз, увеличение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) до 45 мм/ч, содержания общего билирубина (59,4 мкмоль/л) и умеренное повышение активности аминотрансфераз (в 2,5 раза по сравнению с верхней границей нормы). В моче определялись эритроциты и единичные лейкоциты в поле зрения. Выполнена биопсия костного мозга: бласты — 0,2–0,4 %, клеточность сохранена, гиперплазия красного ростка. Учитывая возраст пациентки, обсуждался диагноз наследственной гемолитической анемии. Проводилась симптоматическая терапия.

После выписки отмечались эпизоды снижения содержания гемоглобина, сопровождавшиеся желтушностью кожи и потемнением мочи, которые развивались на фоне острых респираторных вирусных инфекций. С ноября

2009 г. в течение 2 мес получала преднизолон в начальной дозе 1 мг/кг/сут с последующей постепенной отменой, однако гемолитические кризы продолжались. В январе 2010 г. пациентка направлена в Российскую детскую клиническую больницу (Москва), где был заподозрен диагноз ПНГ, подтвержденный при иммунофенотипировании крови: доля клеток с фенотипом ПНГ среди эритроцитов составляла 30 %, а среди гранулоцитов — 45 %. Установлен диагноз: ПНГ, классическая форма. В связи с отсутствием на тот момент специфической терапии рекомендована заместительная терапия эритроцитарной массой, обедненной лейкоцитами и тромбоцитами (ЭМОЛТ), при снижении уровня гемоглобина < 50 г/л.

В течение последующих 5 лет состояние пациентки оставалось стабильно тяжелым, гемолитические кризы повторялись 2–3 раза в год (в основном после вирусных инфекций), в связи с чем проводились трансфузии ЭМОЛТ. При обследовании в динамике ПНГ-клон увеличился до 55 % на эритроцитах и 75 % на гранулоцитах. Уровень ЛДГ сохранялся на уровне 3000–5000 Ед/л. С июня 2015 г., после вакцинации от менингококка, начата терапия экулизумабом в дозе 600 мг/нед внутривенно в течение первого месяца, 900 мг на 5-й неделе лечения, с последующим переходом на поддерживающую терапию в дозе 900 мг каждые 2 нед. Переносимость препарата была хорошей. В результате лечения гемолитические кризы прекратились. Уровень гемоглобина в течение года остается нормальным. Признаков гемолиза нет.

Больной А., 14 лет, впервые поступил в отделение гематологии 21.01.2015 с жалобами на бледность, слабость, утомляемость, появившиеся около месяца назад. В январе 2015 г. перенес ангину. 20.01.2015 в общем анализе крови гемоглобин — 63 г/л, эритроциты — $1,57 \times 10^{12}/л$, лейкоциты — $2,8 \times 10^9/л$, тромбоциты $69 \times 10^9/л$, ретикулоциты — 3,4 %, СОЭ — 40 мм/ч.

При поступлении состояние тяжелое за счет выраженной анемии. Кожные покровы бледные с желтушным оттенком. Печень и селезенка не увеличены. При биохимическом исследовании крови выявлено увеличение содержания общего билирубина (39,7 мкмоль/л) за счет непрямой фракции (прямой билирубин — 8,5 мкмоль/л) и активности ЛДГ (6121,9 Ед/л). Проба Кумбса отрицательная. В моче определялся свободный гемоглобин. Осмотическая резистентность эритроцитов в норме. При пункции костного мозга: бласты — 0,8 %, костный мозг гипоклеточный, гипоплазия гранулоцитарного ростка, умеренная гиперплазия эритроидного ростка, эритропоэз нормобластический. Трепанобиопсия — костный мозг нормоклеточный при сохранности соотношения кровяной и жировой ткани. Серологических признаков HBV, HCV и ВИЧ-инфекции не выявлено. Проводились трансфузии ЭМОЛТ, которые привели к повышению уровня гемоглобина в крови. Диагноз оставался неясным. Медицинские документы консультированы в ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева (Москва). Обсуждались диагнозы

МДС, АА и цитопении неясной этиологии. Рекомендовано динамическое наблюдение.

В течение последующих 3 мес пациент дважды госпитализировался в связи с нарастанием гемолитической анемии (активность ЛДГ достигала 6700 Ед/л), сопровождавшейся гемоглобинурией и умеренными признаками костномозговой недостаточности. Заподозрена приобретенная гемолитическая анемия, а кровь ребенка была направлена в РосНИИ гематологии и трансфузиологии (Санкт-Петербург), где проведено иммунофенотипирование с помощью моноклональных антител к CD45, CD64, CD15, CD235a и ГФИ-якорных антител CD59, CD14, CD24 и FLAER. Выявлен ПНГ-клон: на эритроцитах — 65,8 %; на гранулоцитах — 96,60 %; на моноцитах — 96,70 %. Установлен диагноз: ПНГ с синдромом недостаточности костного мозга. С августа 2015 г. после вакцинации против менингококковой инфекции начато лечение экулизумабом в начальной дозе 600 мг 1 раз в неделю в течение первого месяца, 900 мг на 5-й неделе, а затем по 900 мг каждые 2 нед. Исходно уровень гемоглобина составлял 67 г/л, количество тромбоцитов в крови — $60 \times 10^9/л$, активность ЛДГ — 6550 Ед/л. Уже после первой инфузии препарата уровень гемоглобина увеличился до 78 г/л, а активность ЛДГ снизилась до 3350 Ед/л. При продолжении лечения все показатели крови нормализовались. В июле 2016 г., через год после начала лечения, уровень гемоглобина составлял 123 г/л, эритроциты — $3,06 \times 10^{12}/л$, лейкоциты — $4,5 \times 10^9/л$, тромбоциты — $108 \times 10^9/л$, СОЭ — 10 мм/ч. Признаки гемолиза легко выраженные (общий билирубин — 36,2 мкмоль/л, ЛДГ — 704,9 Ед/л).

Два наблюдения демонстрируют типичную клиническую картину ПНГ, проявляющуюся повторными гемолитическими кризами (резкое снижение уровня гемоглобина в крови, повышение содержания непрямого билирубина и активности ЛДГ) в сочетании с гемоглобинурией. У обоих пациентов развитие кризов провоцировалось респираторными инфекциями. Фактически особенностью наблюдений было только развитие заболевания в подростковом возрасте. Диагноз был заподозрен достаточно быстро и подтвержден при иммунофенотипировании крови методом высокочувствительной проточной цитометрии. У первой пациентки диагностирована классическая форма ПНГ без признаков других заболеваний, связанных с недостаточностью костного мозга, в то время как у 2-го пациента ПНГ сочеталась с синдромом недостаточности костного мозга.

Оба наблюдения иллюстрируют также высокую эффективность экулизумаба (Солирис) в лечении ПНГ. Экулизумаб является рекомбинантным гуманизированным моноклональным антителом, которое связывается с белком C5 комплемента человека и подавляет активацию комплемент-опосредованного лизиса клеток. Эффективность и безопасность препа-

рата в лечении ПНГ, в том числе у детей, установлены в двойных слепых, плацебоконтролируемых исследованиях и длительных наблюдательных исследованиях [15, 16]. У обоих наших пациентов лечение экулизумабом привело к быстрому восстановлению содержания гемоглобина и ликвидации признаков гемолиза, причем во втором наблюдении эффект препарата был отмечен уже после 1-й инфузии препарата. На фоне поддерживающей терапии препаратом (900 мг каждые 2 нед) гемолитические кризы не повторялись.

Заключение

Несмотря на редкость ПНГ у детей, гематологи должны учитывать возможность ее развития в детском и под-

ростковом возрасте. Подозревать это состояние следует при наличии признаков внутрисосудистого гемолиза, который может сочетаться с недостаточностью костного мозга и венозными и артериальными тромботическими осложнениями. Эпизоды гемолиза часто развиваются под действием провоцирующих факторов, таких как инфекции, хирургические вмешательства, интенсивная физическая нагрузка. Важность своевременной диагностики ПНГ у детей и взрослых определяется возможностью патогенетического лечения экулизумабом, которое приводит к стойкому подавлению гемолиза, стабилизации уровня гемоглобина, уменьшению потребности в трансфузиях эритроцитной массы, улучшению качества жизни и функции почек, а также снижению риска тромботических осложнений и увеличению выживаемости больных.

ЛИТЕРАТУРА

- Hill A., Platts P. J., Smith A. et al. The incidence and prevalence of Paroxysmal Nocturnal Haemoglobinuria (PNH) and survival of patients in Yorkshire. *Blood* 2006;108(11):290 a. Abstract 985.
- Rosse W., Ware R.E. The molecular basis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1995;86(9):3277–86.
- Rollins S.A., Sims P.J. The complement-inhibitory activity of CD59 resides in its capacity to block incorporation of C9 into membrane C5b-9. *J Immunol* 1990;144:3478–83.
- Brodsky R.A. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. In: Hoffman R., Benz E. et al. *Hematology: Basic Principles and Practice*. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2005. Pp. 419–427.
- Moyo V.M., Mukhina G.L., Garrett E.S., Brodsky R.A. Natural history of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria using modern diagnostic assays. *Br J Haematol* 2004;126(1):133–8.
- Nishimura J., Kanakura Y., Ware R.E. et al. Clinical course and flow cytometric analysis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the United States and Japan. *Medicine (Baltimore)* 2004;83(3):193–207.
- Hill A., Kelly R.J., Hillmen P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2013;121(25):4985–96.
- Poulou L.S., Xila V., Rokas G.I. et al. Temporal trends in mortality rates from visceral vein thrombosis in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: An optimistic view. *Thromb Haemost* 2008;99(3):642–5.
- Nath K.A., Vercellotti G.M., Grande J.P. et al. Heme protein-induced chronic renal inflammation: suppressive effect of induced heme oxygenase-1. *Kidney Intern* 2001;59:106–17.
- Kim J.S., Jang J.H., Lee J.W. et al. Renal impairment is a risk factor for early mortality in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). In: *Posters of the 16th Congress of the European Hematology Association*; June 9–12, 2011; London, United Kingdom. Abstract 0271.
- Borowitz M.J., Craig F.E., Digiuseppe J.A. et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2010;78(4):211–30.
- Кулагин А.Д., Лисуков И.А., Птушкин В.В. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии. *Клиническая фармакология и терапия* 2015;24(1):18–26. [Kulagin A.D., Lisukov I.A., Ptushkin V.V. et al. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya = Clinical Pharmacology and Therapy* 2015;24(1):18–26. (In Russ.)].
- Naithani R., Mahapatra M., Dutta P. et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in childhood and adolescence – A retrospective analysis of 18 cases. *Ind J Pediatr* 2008;75:575–8.
- Curran K.J., Kernan N.A., Prockop S.E. et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in pediatric patients. *Pediatr Blood Cancer* 2012;59:525–9.
- Reiss U.M., Schwartz J., Sakamoto K.M. et al. Efficacy and safety of eculizumab in children and adolescents with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Pediatr Blood Cancer* 2014;61(9):1544–50.
- Зырянов С.К., Моисеев С.В. Клиническая фармакология и эффективность экулизумаба в лечении пароксизмальной ночной гемоглобинурии и атипичного гемолитико-уремического синдрома. *Клиническая фармакология и терапия* 2014;23(1):81–6. [Zyryanov S.K., Moiseev S.V. Clinical pharmacology and efficacy of eculizumab in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and atypical hemolytic uremic syndrome. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya = Clinical Pharmacology and Therapy* 2014;23(1):81–6. (In Russ.)].