

Диагностика и лечение пароксизмальной ночной гемоглобинурии по данным регистра Оренбургской области

Г.Б. Кучма¹, Л.К. Козлова¹, С.А. Лебеденко², Е.Н. Шевель²

¹ФГОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ

²ГБУЗ Оренбургская областная клиническая больница

Цель. Изучение результатов скрининга на пароксизмальную ночную гемоглобинурию (ПНГ) и оценка эффективности и безопасности экулизумаба у пациентов с ПНГ.

Материал и методы. У 40 пациентов проведено цитофлуориметрическое типирование клона ПНГ в периферической крови с использованием метода FLAER.

Результаты. ПНГ диагностирована у 7 пациентов (5 женщин и 2 мужчин) в возрасте в среднем $41,9 \pm 10,0$ лет, в том числе классическая форма — у 3, на фоне апластической анемии — у 2, субклиническая форма — у 2. У 3 больных с классической формой заболевания применяли экулизумаб. Медиана длительности терапии равнялась 20 мес. Лечение экулизумабом привело к значительному подавлению гемолиза во всех трех случаях. За время лечения не зарегистрировано случаев тромбоза. Функция почек у всех трех пациенток оставалась нормальной. Трансфузионная поддержка проводится 2 из 3 пациентов в минимальном объеме. Серьезных нежелательных явлений при введении экулизумаба не было.

Заключение. Показана высокая эффективность экулизумаба в лечении ПНГ, в том числе подавление внутрисосудистого гемолиза, значительное уменьшение гемотрансфузионной зависимости, предупреждение тромботических осложнений и сохранение трудоспособности пациентов при своевременном назначении препарата.

Ключевые слова. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия, скрининг, регистр, экулизумаб.

Клин. фармакол. тер., 2016, 25 (5), 30-33.

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) — это клональное заболевание, в основе которого лежит приобретенная мутация гена *PIG-A*, приводящая к неконтролируемой активации системы комплемента и образованию мембраноатакующего комплекса (МАК) [1]. МАК вызывает гемолиз эритроцитов, образование прокоагулянтных мембранных микрочастиц и активацию тромбоцитов. ПНГ характеризуется хроническим внутрисосудистым гемолизом и полиморфной клинической картиной (рецидивирующие венозные и артериальные тромбозы, легочная гипертензия, хроническая болезнь почек [ХБП], цитопении) [2,3]. ПНГ относится к редким заболеваниям. Ее распространен-

ность составляет 8-16 случаев на 1 млн населения, а заболеваемость — 1,3 на 1 млн населения в год [3]. Классическая гемолитическая форма ПНГ развивается в любом возрасте с пиком заболеваемости в 30-40 лет и одинаково часто встречается у женщин и мужчин [4,5].

Основным методом диагностики ПНГ является проточная цитометрия с моноклональными антителами к GPI-якорным протеинам (GPI-AP). Этот метод позволяет выявить 3 типа эритроцитов — с нормальным, частичным или полным отсутствием экспрессии GPI-AP на поверхности клеток. Наиболее информативным считают определение дефицита GPI-AP на лейкоцитах, особенно гранулоцитах, так как доля аномальных гранулоцитов точнее отражает размер клона ПНГ-клеток и не зависит от трансфузий эритроцитарной массы и массивного гемолиза дефектных эритроцитов, приводящих к заниженной оценке размеров клона [6,7].

Помимо классической формы заболевания ПНГ-клетки обнаруживают у 57–70% больных апластической анемией (АА) [8-10], 20–50% больных с миелодиспластическим синдромом (МДС) [9,10] и 50% больных с другими заболеваниями, сопровождающимися костномозговой недостаточностью [10]. Выделение субклинической формы ПНГ необходимо для мониторинга в связи с возможным нарастанием размера клона и прогрессированием гемолиза.

Для подавления внутрисосудистого гемолиза традиционно применяли глюкокортикостероиды, препараты фолиевой кислоты и витамина В12. Трансфузии эритроцитарной массы позволяют компенсировать анемию и несколько уменьшить гемолиз путем подавления эритропоэза. Антикоагулянты используют для профилактики тромботических осложнений [5,11]. Современным патогенетическим методом лечения внутрисосудистого гемолиза при ПНГ является использование экулизумаба, представляющего собой гуманизированное моноклональное антитело против C5 компонента комплемента. Высокая аффинность антител обеспечивает стабильное связывание с C5 до момента элиминации комплекса из циркуляции [5].

Целью исследования были изучение результатов скрининга на ПНГ и оценка эффективности и безопасности экулизумаба у пациентов с ПНГ.

Адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ТАБЛИЦА 1. Характеристика больных с классической формой ПНГ

	Пациентка №1	Пациентка №2	Пациентка №3
Возраст на момент постановки диагноза	26 лет	32 года	51 год
Время с дебюта до постановки диагноза	10 лет	6 мес	16 лет
Основные синдромы	Анемия, венозные тромбозы	Анемия, венозные тромбозы	Анемия, венозные тромбозы
Диагноз в дебюте	МДС, АА	Инсульт, гемолитическая анемия	Гемолитическая анемия
Ранее проводимая терапия	Глюкокортикостероиды, циклоспорин А	Глюкокортикостероиды	Глюкокортикостероиды
Осложнения предыдущей терапии	Трансфузионная зависимость, системный гемосидероз, стероидный диабет, ожирение	Нет	Стероидный диабет
Длительность терапии экулизумабом, мес	20	16	26
ЛДГ, ЕД/л			
исходно	2733	1556	1478
на фоне лечения	480	327	550
Нб, г/л			
исходно	41	60	35
на фоне лечения	80-110	95-115	75-110
Трансфузии эритроцитной массы			
исходно	Каждые 2 месяца по 3 дозы	Каждые 2 месяца по 2 дозы	Каждые 3 месяца по 3 дозы
на фоне лечения	Два раза в год по 2 дозы	Нет	Два раза в год по 2 дозы
Трудоспособность	Утрачена	Восстановлена	Утрачена

Материал и методы

Все больные с подозрением на ПНГ обследуются в гематологическом отделении Оренбургской областной клинической больницы. Скрининг на ПНГ проводится с марта 2012 года, с этого же времени ведется регистр пациентов. В Оренбургской области с 03.2012 года по 06.2016 года проведено цитофлуориметрическое типирование клона ПНГ в периферической крови с использованием метода FLAER (FLuorescent Aerolysin – конъюгированный с флуорохромом неактивный вариант порообразующего протеина – аэролизина, который специфически связывается с GPI-AP) 40 пациентам. Показанием к обследованию у 20% пациентов был внутрисосудистый гемолиз, у 15% – тромбозы необычной локализации, у 30% – АА, у 15% – Кумбс-негативный гемолитическая анемия, у 20% – МДС.

Все пациенты с ПНГ осматриваются гематологом с частотой от 2 до 12 раз в год. В клинической картине обращается внимание на симптомы гемолиза (изменение цвета кожи и мочи), анемии (слабость, утомляемость, одышка), тромботических осложнений (боли в груди, животе и др.). Проводится контроль показателей общего анализа крови, количества ретикулоцитов, содержания общего и непрямого билирубина, аминотрансфераз, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), креатинина, сывороточного железа, скорости клубочковой фильтрации, ПНГ-клона. При исследовании мочи исключается гемоглинурия. Иммунологические исследования включают пробу Кумбса и определение циркулирующих иммунных комплексов. Кроме того, всем больным проводится ультразвуковое исследование органов брюшной полости, эхокардиография, а при необходимости – другие исследования.

Результаты

По состоянию на июнь 2016 года в регистр Оренбургской области внесены данные о 7 пациентах с ПНГ, в том числе 5 женщин и 2 мужчины. Средний возраст пациентов на момент постановки диагноза составил $41,9 \pm 10,0$ лет (от 25 до 51 года). Классическая форма ПНГ установлена у 3 больных, ПНГ на фоне АА – у 2, субклиническая форма – у 2.

Классическая форма ПНГ была диагностирована у трех женщин в возрасте 26, 32 и 51 года, у которых длительность гематологической симптоматики до установления диагноза составила, соответственно, 10 лет, 6 месяцев и 16 лет (табл. 1). Всем трем пациенткам через 2 недели после вакцинации против менигококковой инфекции была начата терапия экулизумабом в стандартной дозе (600 мг один раз в неделю 4 инфузии, затем 900 мг каждые 14+2 дня).

У первой больной в 2003 году в возрасте 15 лет после переохлаждения появилась лихорадка, а при обследовании выявлено снижение содержания гемоглобина (Нб) до 57 г/л, эритроцитов до $1,32 \times 10^{12}/л$ и лейкоцитов до $2,8 \times 10^9/л$. Пациентка в течение 10 лет наблюдалась у педиатра с диагнозами МДС, АА, установленными без гистологической и цитологической верификации. Проводилась заместительная терапия эритроцитной массой (по 3 дозы до 6 раз в год), глюкокортикостероидами, циклоспорином А, витамином В12 (короткими курсами). В 2008 году отмечено повышение активности ЛДГ до 1446 ЕД/л (норма до 450 ЕД/л), содержания ферритина до 850 мкг/л (норма до 120 нг/мл), общего билирубина до 28,3 мкмоль/л (норма до 21 мкмоль/л). Терапия продолжена в прежнем объеме. С 2014 года пациентка наблюдается “взрослым” гематологом. Ретроспективно выяснено, что с 2003 года у пациентки отмечаются рецидивирующие эпизоды (1 раз в 3-6 месяцев) болей в животе с подъемом температуры тела до субфебрильных цифр и желтизной кожного покрова, снижением уровня гемоглобина до 41 г/л, ретикулоцитозом до 22%, высоким уровнем ЛДГ (2733 ЕД/л), общего билирубина (33 мкмоль/л), ферритина (1250 мкг/л). В 2010 году перенесла тромбоз вен левой нижней конечности. При эхокардиографии в 2012 году выявлена легочная гипертензия. В мае 2014 года проведено исследование на ПНГ клон (эритроциты – 51,6%,

моноциты – 95,9%, гранулоциты – 96,3%), и впервые диагностирован классический вариант ПНГ. Осложнением ранее проводимой терапии были системный гемосидероз (поражение сердца, печени), стероидный сахарный диабет, ожирение (индекс массы тела – 45,8 кг/м²). Патогенетическая терапия экулизумабом начата через 5 месяцев (с октября 2014 года по настоящее время) с момента диагностики ПНГ. Для улучшения венозного доступа проведена имплантация порта.

У второй больной в июне 2014 года (в возрасте 31 года) возник эпизод потери сознания с ретроградной амнезией. При компьютерной томографии головного мозга патологии не выявлено. Через 6 месяцев повторный эпизод потери сознания при подъеме на 4-й этаж. В общем анализе крови выявлено снижение содержания Hb до 60 г/л, количества эритроцитов до $1,5 \times 10^{12}$ /л, лейкоцитов до $2,8 \times 10^9$ /л, тромбоцитов до 82×10^9 /л. В ноябре 2014 года обследована в гематологическом отделении. Обращало на себя внимание наличие болей в животе, которые расценивались хирургами как тромбоз мезентериальных сосудов. Отмечено повышение уровня ЛДГ до 1556 ЕД/л (норма до 450 ЕД/л), количества ретикулоцитов до 16,7%, содержания общего билирубина до 43,05 мкмоль/л (пациентка страдает синдромом Жильбера). Выявлен ПНГ-клон среди эритроцитов (25,4%), моноцитов (85,0%), гранулоцитов (84,5%). До марта 2015 года больная получала глюкокортикостероиды, трансфузии эритроцитарной массы по 2 дозы каждые 2 месяца. С марта 2015 года начата терапия экулизумабом.

У третьей больной в 1998 году в возрасте 35 лет наблюдался рецидивирующий тромбоз вен правой нижней конечности несмотря на терапию непрямыми антикоагулянтами и дезагрегантами. В ноябре 2013 года пациентка направлена к гематологу в связи с анемией. Диагностированы гемолитическая анемия и тромбофилия (гетерозиготные мутации в генах *MTHFR*, ингибитора активатора плазминогена 1 типа, фактора XIII, тромбоцитарных рецепторов к фибриногену). Была назначена терапия низкомолекулярными гепаринами, дезагрегантами, для купирования гемолиза – глюкокортикостероиды. В марте 2013 года развился рецидив тромбоза вен правой голени, нарастание симптомов анемии и гемолиза. В общем анализе крови снижение уровня Hb до 32 г/л, количества эритроцитов до $1,8 \times 10^{12}$ /л, тромбоцитов до 115×10^9 /л и ретикулоцитоз 7,8%. Количество лейкоцитов было нормальным ($5,57 \times 10^9$ /л). Отмечено повышение активности ЛДГ до 1478 (норма до 450 ЕД/л) и содержания общего билирубина до 69,0 мкмоль/л (норма до 21 мкмоль/л). В апреле 2014 года выявлен ПНГ-клон среди эритроцитов (39,0%), моноцитов (97,9%) и гранулоцитов (85,9%). Осложнением ранее проводимой терапии был стероидный сахарный диабет. С мая 2014 года начата терапия экулизумабом.

В настоящее время все три пациентки с классической ПНГ получают инфузии экулизумаба в течение, соответственно, 20, 16 и 26 месяцев в сочетании с аце-

тилсалициловой кислотой и препаратом фолиевой кислоты, а также низкомолекулярным гепарином в профилактической дозе (у второй и третьей пациенток). На фоне проводимой терапии уменьшились симптомы анемии (одышка, тахикардия, утомляемость), практически купирован гемолиз (активность ЛДГ снизилась в 5 раз и более; у второй больной данный показатель находится в пределах нормы, а у первой и третьей – чуть выше нормы). Содержание гемоглобина увеличилось с 41 до 80-110 г/л, с 60 до 95-115 г/л и с 35 до 75-110 г/л, что существенно сократило потребность в трансфузиях эритроцитарной массы, которые проводятся у первой и третьей пациенток примерно по 4 дозы в год. Случаев тромбозов на фоне терапии экулизумабом не отмечалось. У одной пациентки в первые три месяца после начала терапии наблюдалась головная боль в день введения препарата и на следующие сутки. Других нежелательных явлений не зарегистрировали.

ПНГ на фоне АА была выявлена у двух мужчин в возрасте 44 и 50 лет, соответственно. У обоих пациентов имелись умеренные лабораторные признаки внутрисосудистого гемолиза (активность ЛДГ составляла 659 и 580 ЕД/л, соответственно). Тромботических осложнений в анамнезе не было. Размер ПНГ-клона среди эритроцитов – 6,2% и 3,7%, моноцитов – 29,9% и 24,7%, гранулоцитов – 27,5% и 15,1%. Оба пациента получали иммуносупрессивную терапию препаратом антилимфоцитарного иммуноглобулина, а затем циклоsporином А. Длительность заболевания составляла 32 и 30 месяцев, соответственно. У пациентов определяется частичная ремиссия АА без гемотрансфузионной зависимости, признаков гемолиза и тромбозов. Размер ПНГ-клона на фоне иммуносупрессивной терапии не изменился.

Субклиническую форму ПНГ диагностировали у двух пациенток в возрасте 25 и 49 лет, соответственно. Показанием к обследованию были АА у одной пациентки и МДС у второй. У обеих женщин отсутствовали какие-либо клинические и лабораторные признаки внутрисосудистого гемолиза. При иммунофенотипировании выявлен ПНГ-клон среди эритроцитов (0,02 и 0,02%), моноцитов (0,29% и 0,01%) и гранулоцитов (0,10% и 0,02%). Первой пациентке проведена иммуносупрессивная терапия антитромбоцитарным кроличьим иммуноглобулином, преднизолоном, эритроцитарной массой, тромбоконцентратом. У второй больной ведущим в клинической картине был геморрагический синдром на фоне тромбоцитопении (4×10^9 /л), в связи с чем проводилась терапия преднизолоном, пульс-терапия метилпреднизолоном, ритуксимабом без эффекта. Частичного эффекта удалось достичь при введении ромиплостима в дозе 4 мкг/кг. Учитывая небольшую длительность заболевания (3 месяца), контроль ПНГ-клона не проводился.

Обсуждение

Численность населения Оренбургской области составляет 2 150 000 человек. Согласно статистике в области

должно быть от 16 до 32 пациентов с ПНГ [3], а под наблюдением гематолога находится только 7 больных. У 2 из них диагноз был установлен через 10 и 15 лет после появления симптомов заболевания, что связано как с недостаточной информированностью специалистов о данном заболевании, так и с невозможностью определения ПНГ-клона с помощью лабораторных методов. Неправильная трактовка клинико-лабораторных данных приводит к неадекватному лечению, увеличению числа осложнений и инвалидизации пациентов [11]. У обеих пациенток с поздно диагностированной классической ПНГ наблюдались различные осложнения (гемотрансфузионная зависимость с перегрузкой железом, стероидный сахарный диабет, ожирение, посттромбофлебитические осложнения) и утрата трудоспособности, в то время как своевременная диагностика ПНГ (в течение первых 6 мес) и быстрое назначение патогенетической терапии экулизумабом у третьей пациентки позволили сохранить трудоспособность.

Основными показаниями для назначения экулизумаба у 3 пациенток с классической формой ПНГ были тромботические осложнения и/или трансфузионная зависимость. Медиана длительности терапии равнялась 20 мес. Лечение экулизумабом привело к значительному подавлению гемолиза во всех трех случаях: медиана активности ЛДГ снизилась с 1556 до 480 ЕД/л, а медиана содержания гемоглобина увеличилась с 41 до 90 г/л. За время лечения не зарегистрировано случаев тромбоза. Функция почек у всех трех пациенток остается нормальной. Трансфузионная поддержка проводится 2 из 3 пациенток в минимальном объеме. Серьезных нежелательных явлений при введении экулизумаба не было.

Больные с ПНГ на фоне АА и с субклинической формой болезни поставлены на учет с целью динамического наблюдения и мониторинга размера ПНГ-клона для своевременного выявления прогрессирования заболевания. Им проводится лечение по поводу АА и МДС. В настоящее время пациенты находятся в частичной ремиссии.

Заключение

Повышение активности ЛДГ у больных с АА, МДС, гемолитической анемией, рецидивирующим тромбозом необычной локализации позволяет заподозрить ПНГ и диктует необходимость иммунофенотипирования для выявления ПНГ-клона. Экулизумаб является высокоэффективным препаратом в лечении пациентов с ПНГ. Препарат подавляет проявления внутрисосудистого гемолиза, значительно уменьшает гемотрансфузионную зависимость, предупреждает тромботические осложнения и позволяет сохранить трудоспособность пациентов при своевременном назначении. Для улучшения веноз-

ного доступа можно рекомендовать установку венозного порта.

1. Hillmen P, Muus P, Roth A, et al. Long-term safety and efficacy of sustained eculizumab treatment in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Haematology* 2013;162:62-73.
2. Woodruff TM, Nandakumar KS, Tedesco F. Inhibiting the C5-C5a receptor axis. *Mol Immunol* 2011;48:1531-42.
3. Hill A, Platts PJ, Smith J. The incidence and prevalence of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) and survival of patients in Yorkshire. *Blood* 2006;108(11):Abs 985.
4. Johnson R, Hillmen P. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: Nature's gene therapy? *J Clin Pathol Mol Pathol* 2002;55(3):145-52.
5. Лисуков И.А., Кулагин А.Д., Афанасьев Б.В. Лечение пароксизмальной ночной гемоглобинурии. *Онкогематология* 2012;3:49-54.
6. Кулагин А.Д., Лисуков И.А., Птушкин В.В. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии. *Онкогематология* 2014;2:3-11.
7. Borowitz MJ, Craig FE, Digioseppe JA. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2010;78(4):211-30.
8. Sugimori C, Mochizuki K, Qi Z, et al. Origin and fate of blood cells deficient in glycosylphosphatidylinositol-anchored protein among patients with bone marrow failure. *Br J Haematol* 2009;147(1):102-12.
9. Sugimori C, Chuhjo T, Feng X, et al. Minor population of CD55-CD59-blood cells predicts response to immunosuppressive therapy and prognosis in patients with aplastic anemia. *Blood* 2006;107(4):1308-14.
10. Brecher M, Taswell H. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria and the transfusion of washed red cells: a myth revised. *Transfusion* 1989;29:681-5.
11. Parker C, Omine M, Richards S. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Blood* 2005;106(12):3699-709.

Diagnosis and treatment of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria

G.B. Kuchma, L.I. Kozlova, S.A. Lebedenko, E.N. Shevel

Aim. To evaluate the results of screening for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) and to assess the efficacy and safety of eculizumab in patients with PNH.

Material and methods. Screening for PNH clone was conducted by cytofluorometric method using FLAER in peripheral blood of 40 patients.

Results. PNH was diagnosed in 7 patients (5 female and 2 male, mean age was 41.9 ± 10.0 years). There were three patients with the classic PNH, two patients with PNH in the setting of the aplastic anemia and two patients with the subclinical PNH. Three patients with the classic PNH were treated with eculizumab for the median duration of 20 months. The treatment with eculizumab resulted in a significant suppression of hemolysis in all three cases. There were no thrombotic events. Renal function remained normal in all three patients. Transfusion requirement was minimum in two of three patients. Treatment with eculizumab was not associated with serious adverse events.

Conclusion. Eculizumab demonstrated a high efficacy in the treatment of PNH. It suppresses the symptoms of intravascular hemolysis, significantly reduces the dependence on blood transfusions, prevents thrombotic complications.

Key words. *Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, eculizumab, screening.*

Clin. Pharmacol. Ther., 2016, 25 (5), 30-33.