

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный  
медицинский университет им.акад.И.П.Павлова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра терапии госпитальной с курсом аллергологии и иммунологии имени  
ак.Черноруцкого с клиникой

Кафедра терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и  
функциональной диагностики с клиникой

Кафедра гематологии, трансфузиологии, трансплантологии ФПО с курсом  
детской онкологии им.профессора Б.В.Афанасьева

## **Гемолитические анемии**

Учебно-методическое пособие к практическим занятиям и самостоятельной  
подготовке по внутренним болезням для студентов IV-VI курсов

Санкт-Петербург

2020

Составители:

Кулагин Александр Дмитриевич д.м.н., профессор кафедры гематологии, трансфузиологии, трансплантологии ФПО с курсом детской онкологии им. профессора Б.В.Афанасьева, директор клиники НИИ детской гематологии, онкологии и трансплантологии

Моисеев Иван Сергеевич д.м.н., профессор кафедры гематологии, трансфузиологии, трансплантологии ФПО с курсом детской онкологии, им. профессора Б.В.Афанасьева, заместитель директора по научной работе клиники НИИ детской гематологии, онкологии и трансплантологии

Смирнова Анна Геннадьевна к.м.н., доцент терапии госпитальной с курсом аллергологии и иммунологии имени ак.Черноруцкого с клиникой, заведующая поликлиническим отделением со стационаром дневного пребывания для взрослых клиники НИИ детской гематологии, онкологии и трансплантологии

Рецензент: заведующая кафедрой общей врачебной практики (семейной медицины), профессор Шапорова Наталия Леонидовна

Аннотация

Пособие предназначено для студентов 4-6 курсов и посвящено вопросам этиологии, патогенеза, классификации, клинической картине, диагностике и терапии лимфопролиферативных заболеваний. В пособии рассмотрены особенности клинических проявлений лимфопролиферативных заболеваний на разных стадиях, приведены сведения о физикальных данных, алгоритме обследования, дифференциальной диагностике при данной патологии.

## ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ

**Гемолитические анемии (ГА)** — большая группа заболеваний, имеющих общую особенность патогенеза: уменьшение количества эритроцитов и концентрации гемоглобина в крови вследствие укорочения жизни эритроцитов. При этом способность костного мозга реагировать на анемические стимулы не изменена.

### **Классификация гемолитических анемий:**

I. Врожденные гемолитические анемии (70% от всех гемолитических анемий).

Среди наследственных анемий выделяют:

1. ГА, связанные с генетически детерминированным дефектом мембраны эритроцита (микросфероцитоз, эллиптоцитоз, акантоцитоз, стоматоцитоз).

2. ГА, связанные с дефектом ферментов эритроцитов (дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, дефицит перуваткиназы и др.).

3. ГА, связанные с дефектом синтеза гемоглобина (талассемия, серповидно-клеточная анемия и др.).

4. ГА, связанные с дефектом синтеза порфирина.

II. Приобретенные ГА разделяют на иммунные и неиммунные.

Гемолиз при различных вариантах ГА протекает по внутриклеточному (внесосудистому) или внутрисосудистому типу.

Клинические признаки внутриклеточного гемолиза: анемия, желтуха, спленомегалия.

Клинические признаки внутрисосудистого гемолиза: анемия, желтуха, темная моча.

Лабораторные признаки общие для обоих типов гемолиза: анемия, ретикулоцитоз, увеличение фракции незрелых ретикулоцитов с низкой флуоресценцией.

Лабораторные признаки внутриклеточного гемолиза: гипербилирубинемия за счет непрямого билирубина, уробилин в моче.

Лабораторные признаки внутрисосудистого гемолиза: свободный гемоглобин в сыворотке крови, снижение гаптоглобина в крови, свободный гемоглобин в моче, продукты распада свободного гемоглобина в моче,

гипербилирубинемия за счет непрямого билирубина при внутрисосудистом гемолизе менее выражена.

Ниже будут рассмотрены основные гемолитические анемии. Врожденные — D58.0 Наследственный микросфероцитоз (болезнь Минковского-Шоффара); D55.0 Наследственная ГА, обусловленная дефицитом фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) (Evans R.S., 1949).

Приобретенные — D59.0 Аутоиммунная гемолитическая анемия; D59.5 Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (Маркиафавы-Микели).

## **НАСЛЕДСТВЕННЫЙ МИКРОСФЕРОЦИТОЗ**

**Наследственный микросфероцитоз** (НМС, болезнь Минковского-Шоффара) — заболевание, связанное с генетически детерминированным дефектом белков мембраны эритроцитов, вследствие чего нарушается проницаемость мембраны и внутрь эритроцита поступает избыточное количество натрия. Это приводит к накоплению в эритроцитах воды, их набуханию, изменению формы (с двояковогнутой на сферическую) и нарушению способности изменять форму при прохождении через сосуды микроциркуляторного русла, снижению осмотической стойкости эритроцитов. В сосудах селезенки вследствие этого происходит отщепление части поверхности эритроцитов, укорачивается продолжительность их жизни и усиливается разрушение макрофагами.

**Эпидемиология.** Частота встречаемости заболевания составляет 20 случаев на 1 млн населения.

**Этиология.** Причина заболевания — количественные или качественные дефекты белка мембраны эритроцита — спектрина. Дефект возникает в результате мутаций в генах ANK1 (более 50% случаев), SPTB, SLC4A1, EPB42, SPTA1. Большинство вариантов НМС наследуется по аутосомно-доминантному типу. В большинстве случаев у одного из родителей больного удается обнаружить признаки микросфероцитоза.

**Патогенез.** Изменения в структуре белка спектрина ведут к повышенной проницаемости мембраны эритроцита и пассивному проникновению через нее ионов натрия. Избыток натрия внутри клетки приводит к повышенному накоплению в ней воды, набуханию эритроцитов и изменению их формы с двояковогнутой на сферическую, что приводит к повышенной секвестрации эритроцитов в селезенке и укорочению их жизни (внутриклеточный механизм разрушения эритроцитов). Гемолиз — по внутриклеточному типу.

**Клиническая картина.** У больных детей имеются многочисленные стигмы дисэмбриогенеза (башенный череп, готическое небо, изменение расположения зубов, микрофтальмия, измененные мизинцы).

Практически всегда имеется желтуха, увеличена селезенка. Повышена литогенность желчи — высок риск образования билирубиновых камней.

**Диагностика.** Первичное представление возможно только на основании детального анализа клинической картины заболевания. Подозрение на гемолитическую природу заболевания возникает при анализе гемограммы. В периферической крови выявляется умеренная анемия, иногда анемии может и не быть. Но содержание ретикулоцитов всегда увеличено. Повышение ретикулоцитов прямо коррелирует со степенью выраженности анемии. Цветовой показатель близок к единице. Характерно уменьшение MCV (микросфероцитоз). Другие показатели гемограммы не изменены.

Подтверждение диагноза проводится либо с помощью секвенирования нового поколения, выявляющего мутации в генах ANK1, SPTB, SLC4A1, EPB42, SPTA1. ПЦР диагностика не применима, так мутации в этих генах не являются консервативными.

Биопсия костного мозга практически не проводится. В костном мозге отмечается гиперплазия клеток эритроидного ряда разной степени выраженности.

**Дифференциальная диагностика.** Дифференцировать НМС необходимо в первую очередь с иммунными гемолитическими анемиями. В случае иммунного гемолиза лабораторно выявляются антитела.

**Лечение.** Пациенты с легкими и умеренными клиническими проявлениями получают профилактику фолиевой кислотой. В случае регулярных трансфузий *назначается хелаторная терапия по 10-30 мг/кг деферазирокса*. При наличии тяжелых повторяющихся анемических кризах или желчнокаменной болезни проводится спленэктомия. После спленэктомии практически у всех больных нормализуются содержание гемоглобина и самочувствие. Вопрос о необходимости холецистэктомии решают исходя из клинической ситуации (Greer J., 2013).

**Прогноз** у больных с НМС благоприятный. Отсутствуют данные о сокращении продолжительности жизни на фоне адекватной терапии и наблюдения.

**Профилактика** НМС может заключаться в медико-генетическом консультировании семей с отягощенным анамнезом. Однако, поскольку заболевание является достаточно доброкачественным, серьезных оснований для ограничения рождения детей не бывает.

## **ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АНЕМИЯ, ОБУСЛОВЛЕННАЯ ДЕФИЦИТОМ ФЕРМЕНТА ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ**

**Дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ)** — рецессивно наследуемое заболевание, сцепленное с полом и характеризующееся развитием гемолиза после приема лекарств или употребления в пищу конских бобов. Болеют в основном мужчины.

**Этиология.** У больных имеет место дефицит Г-6-ФДГ в эритроцитах, что приводит к нарушению процессов восстановления глутатиона при воздействии веществ, обладающих высокой окислительной способностью. Дефицит активности ферментов возникает в результате наследственных мутаций в гене G6PD, располагающегося в Xq28. Описано более 190 различных мутаций в различных этнических группах. Самые частые мутации AURES, MEDITERRANEAN, A-, SIBARI, VIANGCHAN и ANANT.

Патогенез. Дефицит Г-6-ФДГ наследуется по рецессивному Х-сцепленному типу. При низкой активности фермента в эритроцитах нарушаются процессы восстановления никотинамиддинуклеотидфосфата (НАДФ) и превращения окисленного глутатиона в восстановленный. Последний предохраняет эритроцит от действия гемолитических агентов-окислителей. Гемолиз при их воздействии развивается внутри сосудов по типу криза.

Степень тяжести определяется активностью фермента: легкая – более 60%, средней тяжести – 10-59%, тяжелая – менее 10%.

**Клиническая картина.** Гемолитический криз могут провоцировать противомаларийные препараты, сульфаниламиды, анальгетики, нитрофураны, растительные продукты (бобы, стручковые). Гемолиз наступает через 2-3 дня после их приема. У больного повышается температура, появляются резкая слабость, боли в животе, неоднократная рвота. Нередко развивается коллапс. Выделяется моча темного или даже черного цвета как следствие внутрисосудистого гемолиза и появления в моче гемосидерина. Иногда из-за закупорки почечных канальцев продуктами гемолиза развивается острая почечная недостаточность. Появляется желтуха, определяются гепато- и спленомегалия.

**Диагностика** основана на определении активности Г-6-ФДГ. Сразу после гемолитического криза результат может оказаться завышенным, так как разрушаются в первую очередь эритроциты с наименьшим содержанием фермента.

При исследовании крови — нормохромная выраженная анемия, ретикулоцитоз, в мазке много нормоцитов и телец Гейнца (денатурированный гемоглобин). Определяются специфические формы разрушенных эритроцитов – дегмациты («кушеные» клетки). Повышается содержание свободного билирубина в крови. Осмотическая стойкость эритроцитов в норме или повышена. Решающий метод диагностики — выявление снижения в эритроцитах Г-6-ФДГ.

**Лечение** заключается в устранении факторов, провоцирующих гемолиз. При развитии гемолитических кризов и развитии тяжелой анемии возможно проведение заместительных гемотрансфузий. В ограниченном числе тяжелых случаев приходится прибегать к спленэктомии (Greer J., 2013).

## **ПРИОБРЕТЕННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ**

Все приобретенные гемолитические анемии можно разделить на две группы: иммунные и неиммунные ГА.

Причины возникновения неиммунных ГА: тромботическая тромбоцитопеническая пурпура, гемолитико-уремический синдром (ТТР/HUS); эклампсия и преэклампсия на фоне беременности; васкулиты (полиартерииты, гранулематоз Вегенера, острый гломерулонефрит, рикетсиозные инфекции); ДВС-синдром; сердечнососудистые заболевания различного генеза; медикаментозно-индуцированные (циклоспорин, митомицин, тиклопидин, такролимус); механические воздействия на эритроциты при гемодиализе, операциях с использованием аппаратов искусственного кровообращения, ожогах; инфекционные и паразитарные заболевания (малярия); гиперспленизм; пароксизмальная ночная гемоглобинурия (болезнь Маркиафава-Микели).

## **ИММУННЫЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ АНЕМИИ**

ИГА — заболевания, связанные с укорочением жизни эритроцитов вследствие воздействия АТ, при сохранении способности костного мозга реагировать на анемические стимулы. Основным симптомом данных заболеваний является быстрое снижение количества эритроцитов и содержания гемоглобина в крови.

Группы ИГА:

1) аллоиммунные (или изоиммунные) — анемии, связанные с воздействием экзогенных АТ к антигенам эритроцитов больного;

2) трансиммунные — ИГА, связанные с воздействием АТ, проникающих через плаценту и направленных против антигенов эритроцитов ребенка;

3) гетероиммунные (гаптеновые) — ИГА, развивающиеся в результате фиксации на поверхности эритроцита нового экзогенного антигена — гаптена;

4) аутоиммунные — ИГА, возникающие в результате формирования патологического клона плазматических клеток.

Частота встречаемости ИГА составляет около 100 случаев на 1 млн населения. Наиболее значимой является аутоиммунная гемолитическая анемия.

## **АУТОИММУННАЯ ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АНЕМИЯ**

Разделяют идиопатические аутоиммунные гемолитические анемии (АИГА) и вторичные АИГА.

Вторичные АИГА развиваются на фоне следующих заболеваний: ревматоидного артрита, склеродермии, синдроме Шегрена, лимфопролиферативных заболеваниях, других злокачественных заболеваниях, грибковых инфекциях, тимомах, язвенном колите, В12-дефицитной анемии, болезни Кавасаки, первичном билиарном циррозе печени. При отсутствии причин для аутоиммунной гемолитической анемии верифицируют идиопатическую АИГА.

АИГА возникает из-за персистенции клона плазматических клеток, вырабатывающих антитела к собственным эритроцитам. Преимущественно встречаются IgG антитела.

**Эпидемиология.** Заболеваемость составляет 1-3 случая на 100 000 населения ежегодно.

**Этиология.** Причины развития АИГА, как и многих других аутоиммунных заболеваний, не ясны. Обсуждается воздействие некоторого триггерного агента (возможно, вируса или микроорганизма), вследствие которого происходит срыв иммунологической толерантности к собственному антигену.

**Патогенез.** Характер патогенетических механизмов при АИГА зависит главным образом от характера АТ, вырабатываемых против собственных неизмененных антигенов эритроцитов. Классификация АТ: по механизму действия (агглютинины, гемолизины, преципитины); по температурному

оптимуму активности (тепловые, холодовые); по серологической характеристике (полные, неполные). Тепловые антитела как правило направлены на Rh антигены или гликофорины, холодовые на I и I антигены.

Нагруженные антителами (агглютинидами или преципитинами) эритроциты разрушаются в селезенке, печени и костном мозге, гемолиз осуществляется по внутриклеточному типу. АТ класса гемолизинов при фиксации на поверхности эритроцита вызывают внутрисосудистый гемолиз. Проявления заболевания будут в первую очередь определяться механизмом разрушения эритроцитов — внутриклеточным или внутрисосудистым.

**Клиническая картина.** Наиболее частым вариантом является АИГА, обусловленная неполными тепловыми агглютинидами (анемия с внутриклеточной гибелью эритроцитов). Характерные жалобы связаны с развитием гипоксии тканей (резкая слабость, сонливость, обмороки, одышка, сердцебиение). Часто отмечается субфебрильная или фебрильная температура тела. У некоторых больных, особенно пожилых, возможно развитие анемической прекомы и комы. У больных с кардиальной патологией существует вероятность нестабильной стенокардии или левожелудочковой недостаточности.

При осмотре: резкая бледность кожи и видимых слизистых оболочек. Образование из Hb разрушающихся эритроцитов большого количества непрямого билирубина ведет к развитию желтухи. У 2/3 больных выявляется увеличение селезенки и более чем у половины больных — печени.

При АИГА, обусловленной образованием АТ класса гемолизинов (анемия с внутрисосудистой гибелью эритроцитов), больные жалуются на боли в поясничной области, повышение температуры тела, появление мочи черного цвета, а также предъявляют жалобы, связанные со снижением содержания Hb (анемический синдром). Кожа и видимые слизистые оболочки бледные. Увеличение селезенки встречается нечасто, и размеры ее невелики.

**Диагностика.** Сочетание анемического синдрома, желтушности кожи и (или) слизистых оболочек, а также увеличение селезенки должно заставить

врача в первую очередь заподозрить АИГА с внутриклеточным механизмом разрушения эритроцитов. Такое предположение требует незамедлительного исследования периферической крови с обязательным определением количества ретикулоцитов. В крови отмечается значительное снижение содержания эритроцитов и Hb. Цветовой показатель близок к единице, СКО эритроцитов находится в пределах 80-95 фл (нормоцитоз). Содержание ретикулоцитов значительно увеличено. Отмечается сдвиг в сторону молодых ретикулоцитов с низкой флуоресценцией. В тяжелых случаях возможно появление в периферической крови нормобластов.

Количество лейкоцитов и тромбоцитов находится в пределах нормы. Лейкоцитарная формула не изменена, хотя могут наблюдаться и лейкомоидные реакции по нейтрофильному типу. СОЭ значительно увеличена.

При исследовании мочи может быть зафиксировано появление уробилина. Кал у больных с АИГА с внутриклеточным механизмом разрушения эритроцитов приобретает более темную, по сравнению с обычной, окраску.

Для верификации диагноза АИГА с внутриклеточным механизмом разрушения эритроцитов используют тест, определяющий наличие АТ на поверхности эритроцитов, — положительная прямая проба Кумбса (проба Кумбса: антиглобулиновую сыворотку кролика, полученную путем его сенсибилизации  $\gamma$ -глобулином человека, добавляют к исследуемым эритроцитам. Сыворотка не вызывает агглютинации нормальных отмытых эритроцитов, но при присоединении антиглобулиновой сыворотки к эритроцитам, содержащим на своей поверхности неполные АТ, белковые молекулы укрупняются и эритроциты агглютинируют). Более чувствительная проба — реакции агрегатогемагглютинации.

При появлении у больного мочи черного цвета, боли в поясничной области и анемических жалоб необходимо предположить наличие АИГА с внутрисосудистым вариантом разрушения эритроцитов. Это предположение усиливается при выявлении нормохромной нормоцитарной анемии с

увеличением количества ретикулоцитов. Отмечается снижение гаптоглобина в крови.

При исследовании мочи выявляется свободный гемоглобин, а при исследовании мочевого осадка отмечается увеличение количества клеток эпителия почечных канальцев с включениями ге-мосидерина.

Для установления холодовой АИГА проводится исследование холодových агглютининов.

Патоморфология костного мозга: гиперплазия красного ростка кроветворения различной выраженности. При тяжелых гемолитических кризах костный мозг способен увеличивать продукцию эритроцитов в 6-8 раз (Jäger U., 2020).

**Дифференциальная диагностика.** АИГА с внутриклеточным механизмом разрушения эритроцитов необходимо дифференцировать от других анемических состояний, сопровождающихся увеличением количества ретикулоцитов: постгеморрагической анемией; ЖДА на фоне терапии препаратами железа; В12ДА на фоне терапии витамином В12; ФДА на фоне терапии фолиевой кислотой. Для разграничения этих состояний большое значение имеет внимательное изучение анамнеза и анализ имеющихся документальных данных о течении заболевания. Важным подспорьем является проба Кумбса. АИГА с внутрисо-судистым разрушением эритроцитов необходимо дифференцировать от ПНГ (отрицательные сахарозная проба и проба Хема при АИГА и положительные — при ПНГ).

**Лечение.** АИГА требует незамедлительного лечения. Препараты первой линии — ГКС — преднизолон внутрь в дозе 1-1.5 мг/кг массы тела в сутки. Стартовая доза сохраняется в течение 2 недель или до достижения уровня Нб >120 г/л. В дальнейшем преднизолон отменяется ступенчато по 20 мг в неделю до достижения дозы в 20 мг в сутки, которая редуцируется медленно, в течение 4-8 недель. Преднизолон может вводиться внутривенно, внутримышечно или приниматься перорально в эквивалентных дозах. Несмотря на наличие ряда исследований, свидетельствующих о преимуществе использования

ритуксимаба 375 мг/м<sup>2</sup> в первой линии терапии вместе с преднизолоном при АИГА с тепловыми антителами, только при АИГА с холодowymi антителами или АИГА на фоне хронического лимфолейкоза использование ритуксимаба в монотерапии может быть оправдано в первой линии.

Рефрактерность к глюкокортикостероидам или рецидивы АИГА наблюдаются у почти половины пациентов. В этом случае используются *ритуксимаб* 375 мг/м<sup>2</sup> в месяц или 100 мг еженедельно, *микофенолата мофетил* 500-1000 мг два раза в сутки, *циклоспорин А* 2,5 мг перорально два раза в сутки, *циклофосфан* 50-150 мг в сутки перорально, *азатиоприн* 2-4 мг в сутки 1 раз в день в порядке убывания частоты применения этих методов.

*Спленэктомия* в настоящее время проводится нечасто, в качестве третьей-четвертой линии терапии. У пациентов старше 70 лет и детей спленэктомия проводится крайне редко в связи с высоким риском развития иммунодефицита и инфекционных осложнений.

В случае повторных кризов АИГА на фоне существующего аутоиммунного или лимфопролиферативного заболевания показано проведение терапии основного заболевания и достижение ремиссии этого основного заболевания с целью предотвращения рецидивов АИГА (Go R.S., 2017).

**Прогноз.** При адекватной терапевтической тактике ведения прогноз у больных с АИГА благоприятный.

**Профилактика.** Эффективной профилактики АИГА не существует.

## **ПАРОКСИЗМАЛЬНАЯ НОЧНАЯ ГЕМОГЛОБИНУРИЯ**

**Пароксизмальная ночная гемоглинурия (ПНГ)** (исторически болезнь Маркиафавы-Микели, код МКБ10 D59.5) — это приобретенное клональное заболевание, связанное с соматической мутацией в стволовых кроветворных клетках (СКК) гена *PIG-A*. Клоном ПНГ называют клетки крови всех линий дифференцировки, являющиеся потомками СКК с мутацией *PIG-A*, а маркером клональности служит отсутствие или резкое снижение экспрессии GPI-якоря/GPI-связанных белковых молекул. ПНГ характеризуется хроническим

внутрисосудистым гемолизом, выраженной тромбофилией, поражением почек, легких и ассоциировано с иммуноопосредованной костномозговой недостаточностью.

**Эпидемиология.** ПНГ относится к орфанным заболеваниям, в том числе по критериям, принятым в России, с распространенностью не более 10 случаев на 100 тысяч населения. Заболеваемость ПНГ составляет около 1,3 случая на 1 млн населения в год, а расчетная распространенность, с учетом новых случаев и выживаемости, достигает 16 больных на 1 млн населения. Часть случаев длительно не распознается, и больные могут погибать, в частности, от тромботических осложнений, с неуточненным первичным диагнозом. Однако с учетом улучшения выживаемости пациентов на фоне современного лечения, распространенность ПНГ будет расти.

ПНГ может развиваться в любом возрасте, в том числе у детей и лиц пожилого и старческого возраста, медиана возраста на момент установления диагноза составляет от 30 до 45 лет. Соотношение больных по полу приближается к эквивалентному или имеется небольшое превалирование женщин (до 55-59 %).

Около половины всех случаев ПНГ составляют пациенты с анамнезом или настоящим диагнозом приобретенной апластической анемии (АА). В остальных случаях имеет место классическая форма ПНГ с отсутствием дефинитивных признаков других заболеваний крови.

**Этиология и патогенез.** Клоны ПНГ происходят из стволовых кроветворных клеток с одной или несколькими приобретенными мутациями PIG-A гена, который локализуется в X-хромосоме. Данный ген кодирует ранние этапы синтеза гликозилфосфатидилинозитоловой (GPI) якоря, который фиксирует большое число молекул на мембранах клетках крови, в том числе ингибиторы комплемента CD59 и CD55. Отсутствие или снижение экспрессии данных молекул на мембране эритроцитов приводит к неконтролируемой активации комплемента и является причиной развития комплемент-опосредованного внутрисосудистого гемолиза. Последующие события связаны с развитием

гемолитической анемии, степень которой может сильно варьировать, но в большей степени имеет значение высвобождение свободного гемоглобина с быстрым истощением оксида азота (NO). Это может привести к выраженным симптомам дистонии гладкой мускулатуры, усталости, развитию тромбозов, нефропатии и легочной гипертензии.

Однако наличие только мутации *PIG-A* не является достаточным для развития болезни, и для экспансии клона ПНГ требуются дополнительные внешние и внутренние факторы. Главным внешним фактором признается подавление нормального GPI(+) поликлонального кроветворения в условиях иммуноопосредованной недостаточности кроветворения, из-под которого GPI(-) клетки клона ПНГ ускользают («immune escape»), и формируется клональная селекция. Гипотетически эта относительная резистентность к иммунному повреждению связана с глобальным дефицитом на клетках клона ПНГ GPI-якоря как такового и связанных молекул, необходимых для формирования потенциальных мишеней для Т-лимфоцитов.

Вероятно, имеется второй механизм экспансии клона ПНГ, который обусловлен приобретением дополнительных соматических мутаций внутри определенного клона ПНГ, который может стать доминантным. Так, у части больных ПНГ с аномалией 12 хромосомы (12q13-15) или без нее описана гиперэкспрессия гена *HMG2A*, характерная для ряда доброкачественных мезенхимальных опухолей, в частности липом. Гиперэкспрессия гена *HMG2A* вызывает экспансию человеческих и мышиных СКК *in vivo* и не зависит от мутаций *PIG-A*.

Полноэкзомное секвенирование выявляет дополнительные мутации у более чем 80 % больных, в ряде случаев они формируют субклоны внутри клона с мутацией *PIG-A*, а в других случаях - предшествуют ей. Важно подчеркнуть, что дополнительные мутации затрагивали гены, известные своей ролью при миелоидных опухолях (*TET2*, *SUZ12*, *ASXL1*, *JAK2*, *U2AF1*). Однако значение этих мутаций требует уточнения, поскольку риск развития

миелодиспластического синдрома (МДС) и острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) при ПНГ не превышает 5 %.

Согласно альтернативной стохастической гипотезе клональная экспансия ПНГ является следствием нейтрального дрейфа внутри небольшого пула пролиферирующих СКК, обеспечивающих кроветворение, а не направленного отбора мутировавших СКК (Cooper J.N.,2013).

**Клиническая картина.** Клиническая манифестация ПНГ связана с проявлениями и осложнениями гемолиза, включая поражение органов и тромбозы, а также последствиями цитопении, которая в ряде случаев АА/ПНГ или МДС/ПНГ может быть выражена.

Дебют классической ПНГ варьирует от длительного этапа умеренного хронического гемолиза с разной степенью выраженности слабости и утомляемости до ярких симптомов внутрисосудистого гемолиза, иногда возникающих остро: выраженная слабость, одышка, выделение темной мочи, в том числе в утренние часы, желтуха, боль в животе, спине, грудной клетке, головные боли, лихорадка, дисфагия, в отдельных случаях - рвота и диарея. В ряде случаев первыми проявлениями заболевания становятся тромбозы различной локализации и эпизоды острого повреждения почек (ОПП). В качестве провоцирующих факторов внутрисосудистого гемолиза в дебюте болезни могут выступать инфекции, травмы, операции, беременность, прием лекарств, в том числе препаратов железа. При осмотре отмечается бледность и желтушность.

Тромбозы являются ведущей причиной летальности при естественном течении ПНГ. Главными особенностями тромбозов при ПНГ является их частота, молодой возраст больных, необычные локализации и низкая эффективность традиционной первичной и вторичной профилактики. Каждый третий пациент развивает первый тромботический эпизод в течение 10 лет от дебюта заболевания, и каждый третий развивает второй тромбоз в течение 1 года от первого тромбоза. Удельный вес венозных и артериальных тромбозов

составляет около 75 % и 25 % соответственно. Превалирующими локализациями венозных тромботических эпизодов являются глубокие (25 %), интраабдоминальные (19 %), поверхностные (13 %) и церебральные (5 %) вены, а также ТЭЛА (12 %). Среди артериальных тромбозов доминируют ишемический инсульт (19 %) и инфаркт миокарда (4 %).

Согласно Рабочей классификации (2005) выделяют 3 клинические формы заболевания, которые в ряде случаев являются текущим этапом развития болезни у одного и того же пациента:

1. *Классическая ПНГ с наличием большого клона*, клинически и лабораторно выраженного гемолиза и отсутствием дефинитивных признаков других заболевания крови, а именно АА, МДС, первичного миелофиброза.
2. *ПНГ, связанная с другими синдромами костномозговой недостаточности* (АА/ПНГ, реже МДС/ПНГ и крайне редко первичный миелофиброз/ПНГ) с наличием клинических и лабораторных признаков внутрисосудистого гемолиза и большого клона ПНГ (как правило, более 10% среди лейкоцитов).
3. *Субклиническая ПНГ на фоне других синдромов костномозговой недостаточности* (АА/сПНГ, МДС/сПНГ, первичный миелофиброз/сПНГ) с отсутствием клинических и лабораторных признаков гемолиза и наличием минорного клона клеток с ПНГ-фенотипом (как правило, менее 1% среди лейкоцитов). Субклиническая ПНГ не является самостоятельным диагнозом, однако требует соответствующего клинического и лабораторного мониторинга в связи с возможностью экспансии клона и развития второй формы ПНГ с клинически значимым гемолизом.

**Диагностика.** Первичное представление о ПНГ складывается при выявлении клинических (слабость, желтушность, боли в спине и животе, выделение темной мочи, дисфагия, тромбоз и др.) и лабораторных признаков внутрисосудистого гемолиза (нормохромная анемия, увеличение количества

ретикулоцитов, повышение уровня лактатдегидрогеназы крови, снижение уровня гаптоглобина, гемоглинурия и гемосидеринурия, гипербилирубинемия). Подозрение на ПНГ усиливается при сочетании вышеперечисленных признаков с нейтропенией и/или тромбоцитопенией. По мере развития болезни анемия приобретает характер гипохромной вследствие значительных потерь железа с мочой.

Классическая ПНГ является трудно распознаваемым редким заболеванием крови. Ошибки диагностики (гиподиагностика) достигает 80 %. Неспецифическая клиническая манифестация заболевания, в том числе с тяжелых осложнений, делает актуальным проведение скрининга в группах риска по диагнозу ПНГ. Тестирование на наличие клона ПНГ должно быть проведено во всех случаях гемолиза с отрицательной прямой антиглобулиновой пробой, гемоглинурией / гемосидеринурией и почечной дисфункцией. Вторая группа показаний связана с синдромами костномозговой недостаточности (АА, МДС с признаками гемолиза, гипоплазией кроветворения, неутонченные цитопении). Выявление минорного клона ПНГ при цитопениях является сильным аргументом в пользу иммуноопосредованного синдрома костномозговой недостаточности и фактически исключает периферические цитопении (ИТП, АИГА и иммунные нейтропении) и конституциональные синдромы (анемию Фанкони, врожденный дискератоз и др.). Наконец, тестирование клона ПНГ требуют необъяснимые тромбозы в сочетании с признаками гемолиза и цитопенией, либо в необычных локализациях.

Проба Хема и сахарозная проба, выявляющие повышенную чувствительность эритроцитов к комплементу, носит исторический характер и не рекомендуются в качестве стандарта диагностики ПНГ. Современная лабораторная диагностика ПНГ базируется на выявлении популяций клеток периферической крови с отсутствием или снижением экспрессии GPI-якоря и/или различных белков, связанных с мембраной посредством GPI-якоря методом проточной цитофлуорометрии. Текущим стандартом чувствительности проточной

цитометрии для клинических целей является выявление до 0.01 % клеток с фенотипом ПНГ.

Диагностикум FLAER (fluorescently-labeled aerolysin reagent) представляет собой меченный флуорохромом, обычно Alexa 488, инактивированный токсин аэролизин, продуцируемый бактериями *Aeromonas hydrophila*. В отличие от моноклональных антител, используемых для детекции GPI-связанных белков, FLAER непосредственно связывается с GPI-якорем на гранулоцитах и моноцитах. Одновременное тестирование самого GPI-якоря с помощью FLAER и GPI-связанных молекул позволяет очень надежно и точно выявлять популяции клеток с их дефицитом и делает диагноз ПНГ прецизионным.

Общепринятым является обязательное тестирование клона ПНГ среди гранулоцитов, моноцитов и эритроцитов, а за истинный размер клона принимается процент GPI-дефицитных клеток среди лейкоцитов, обычно FLAER-CD24- гранулоцитов и FLAER-CD14- моноцитов. При тестировании эритроцитов оценка размера клона, как правило, значительно занижена вследствие избирательного гемолиза дефектных эритроцитов и, нередко, трансфузий донорских эритроцитов. Тестирование эритроцитов позволяет надежно идентифицировать клетки с нормальной экспрессией (I тип), частичным дефицитом (II тип) и полным отсутствием (III тип) экспрессии CD59, различающихся по своей чувствительности к комплементу и длительности жизни.

Прецизионный диагноз каждой из форм ПНГ, наряду с тестированием клона ПНГ, базируется на оценке степени цитопении и полном исследовании костномозгового кроветворения. Цитологическое, гистологическое и цитогенетическое исследование костного мозга являются обязательными при диагностике ПНГ. Патоморфология костного мозга включает гиперплазию эритроидного ростка кроветворения и уменьшение количества гранулоцитарных предшественников и мегакариоцитов. Глобальная клеточность костного мозга в трепанобиоптате при классической ПНГ может

быть высокой, нормальной или умеренно сниженной. Одновременно с этим, клеточность костного мозга при АА/ПНГ может варьировать от глубокой аплазии до нормальной или даже повышенной в случаях с полным восстановлением кроветворения за счет клона ПНГ.

**Дифференциальная диагностика.** При выявлении признаков внутрисосудистого гемолиза диагностика несложна, поскольку круг болезней с внутрисосудистым гемолизом ограничен. Ключевыми тестами для разграничения ПНГ и АИГА с внутрисосудистым гемолизом являются прямая антиглобулиновая проба Кумбса и проточная цитометрия на наличие клона ПНГ.

При выявлении цитопении и отсутствии клинико-лабораторных признаков внутрисосудистого гемолиза возникает необходимость в дифференциальной диагностике с заболеваниями, сопровождающимися панцитопенией в периферической крови, а именно апластической анемией и миелодиспластическим синдромом (Кулагин А. Д., 2014).

**Лечение.** Существует две терапевтические опции, потенциально изменяющие естественное течение и отдаленный прогноз ПНГ: *аллогенная трансплантация костного мозга* (ТКМ) от HLA-совместимого донора и таргетная ингибция терминальных этапов активации комплемента с помощью анти-C5 моноклональных антител (*экулизумаб, равулизумаб*).

**Таблица 1. Преимущества и недостатки аллогенной ТКМ и таргетной терапии**

Аллогенная ТКМ	Экулизумаб
<b>Преимущества</b>	
Излечивающий метод	Высокоэффективный долгосрочный контроль гемолиза и его осложнений
Коррекция костномозговой недостаточности	Выживаемость, сравнимая с популяционной
<b>Недостатки</b>	
Летальность, связанная с процедурой	Пожизненный не излечивающий метод
Ограничения по возрасту и наличию HLA-совместимого донора	Не влияет на костномозговую недостаточность

Вероятность хронической РТПХ	Естественный риск развития МДС/ОМЛ (до 5%)
Вероятность отторжения	Внесосудистый гемолиз за счет опсонизации эритроцитов фрагментами С3
Вторичные опухоли	Прорывной гемолиз и необходимость коррекции дозы
Инфекционные осложнения	Повышенный риск менингококковой инфекции
Сложная инфраструктура	Высокая стоимость лечения

Ключевым преимуществом аллогенной ТКМ является коррекция костномозговой недостаточности и эрадикация клона ПНГ. Однако, непосредственный риск процедуры ТКМ и вероятность отдаленных осложнений могут перевешивать ее преимущества у больных с отчетливым превалированием гемолиза, когда может быть использована безопасная и эффективная таргетная терапия экулизумабом (Risitano A.M.,2019).

Терапия экулизумабом рекомендована при документированном активном внутрисосудистом гемолизе (классическая ПНГ, АА/ПНГ, МДС/ПНГ) и наличии следующих показаний: тромботические осложнения, нарушение функции органов и систем (нефропатия, легочная гипертензия), трансфузионная зависимость вследствие хронического гемолиза, беременность. Данные показания не охватывают всех пациентов группы высокого риска, у которых следует рассматривать раннюю терапию. В частности, больные без документированных тромбозов, тяжелой органной дисфункции и анамнеза трансфузий могут иметь интенсивный гемолиз с выраженной слабостью, анемией, болевым синдромом, одышкой, дисфагией, эректильной дисфункцией. Наблюдательная тактика и симптоматическая терапия в подобных ситуациях сопряжена с высоким риском жизнеугрожающих и инвалидизирующих тромботических и органных осложнений.

Развивающейся концепцией является начало терапии гемолиза при констатации высокой активности болезни, в качестве критериев которой предложены сочетание уровня ЛДГ  $\geq 1.5$  норм с одним или более признаком: слабость, гемоглобинурия, абдоминальные боли, диспноэ, анемия (гемоглобин  $< 100$  г/л),

неблагоприятное сосудистое событие, включая тромбозы, дисфагия и эректильная дисфункция.

У больных с АА/ПНГ терапия экулизумабом не является альтернативой стандартным методам терапии костномозговой недостаточности (аллогенной ТКМ или комбинированной иммуносупрессивной терапии), а дополняет их по вышеизложенным показаниям у пациентов с большим клоном ПНГ и выраженным внутрисосудистым гемолизом.

Постоянная терапия экулизумабом при строгом соблюдении режима введения препарата позволяет длительно и эффективно контролировать внутрисосудистый гемолиз у подавляющего большинства больных ПНГ. В ключевых международных исследованиях продемонстрировано быстрое и эффективное купирование внутрисосудистого гемолиза, прекращение или уменьшение зависимости от трансфузий эритроцитов, улучшение качества жизни, снижение риска тромботических осложнений, улучшение функции почек и уменьшение легочной гипертензии. Главным результатом эффективного контроля внутрисосудистого гемолиза и его осложнений является повышение выживаемости пациентов.

Антикомплементарная терапия быстро развивается и в дополнение к *экулизумабу* и *равулизумабу* ожидается спектр новых молекул, как к традиционной мишени C5, так и к другим мишеням (C3, фактор D и др.), которые в том числе призваны решить проблему персистенции внесосудистого C3-опосредованного гемолиза.

Сопроводительная терапия. Терапия антикоагулянтами остается стандартным компонентом лечения ПНГ, однако имеет ряд существенных недостатков и ограничений, таких как низкая эффективность в предотвращении новых тромботических эпизодов в условиях неконтролируемого внутрисосудистого гемолиза, риск кровотечений и невозможность использования у больных с глубокой тромбоцитопенией и др.

Первичная профилактика тромбозов антикоагулянтами оправдана в случаях сочетания большого клона ПНГ ( $\geq 50$  % среди гранулоцитов) и дополнительных факторов риска, таких как беременность, оперативные вмешательства, травмы, инфекции, эпизоды острого повреждения почек, а также при наличии болевого синдрома. В подавляющем большинстве случаев первичная профилактика может быть безопасно отменена при достижении эффективного контроля гемолиза на фоне терапии экулизумабом.

Развитие любого тромботического эпизода при ПНГ является ургентной ситуацией и показанием к немедленной терапии экулизумабом и полной антикоагуляции низкомолекулярным гепарином с дальнейшим переводом на прием пероральными препаратами. Отмена вторичной антикоагулянтной профилактики при терапии экулизумабом изучена недостаточно и в настоящий момент не рекомендуется.

Симптоматическая терапия включает в себя трансфузии эритроцитов. Использование преднизолона или других ГКС и (или) иммунодепрессантов не дает эффекта в связи с отсутствием точки приложения для действия данных препаратов (Brodsky R.A., 2009).

**Прогноз.** До внедрения современной таргетной терапии летальность при классической ПНГ достигала 35 % и 50 % в течение первых 5 и 10 лет, преимущественно вследствие тромбозов. В настоящий момент долгосрочный прогноз ПНГ с превалированием гемолиза определяется доступностью таргетной антикомплементарной терапии, а при прогрессии костномозговой недостаточности или трансформации в МДС и ОМЛ – возможностью проведения аллогенной ТКМ. Описаны случаи длительных спонтанных ремиссий с уменьшением размера или полным исчезновением клона ПНГ.

**Профилактика.** Эффективной профилактики ПНГ не существует. У больных с АА при проведении иммуносупрессивной терапии риск развития гемолитической ПНГ достигает 15-20 % в течение 10 лет, и только аллогенная ТКМ эффективно предотвращает данный сценарий.

## Тестовые вопросы:

### Литература

Афанасьев Б.В., Алмазов В.А. Родоначальные стволовые клетки человека. Л., 1985.

Воробьев А.И. (ред.) Руководство по гематологии (в 3-х т.). М., 2002-2005 г., 3-е изд.

Мамаев Н.Н., Афанасьев Б.В., Михайлова Н.Б. Гематология: руководство для врачей СПб.: СпецЛит, 2019. - 656 с. : ил.

Кулагин А. Д., Лисуков И. А., Птушкин В. В., Шилова Е. Р., Цветаева Н. В., Михайлова Е. А. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии // Онкогематология. 2014;2:20-28.

Савченко В.Г. (ред.) Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови (в 2-ч т.). М., 2018.

Шулутко Б. И. Макаренко С. В. Стандарты диагностики и лечения внутренних болезней / . — Изд. 5-е, доп. и перераб. СПб.: Медкнига ЭЛБИ-СПб — 2009 г. – 704 с.

Brodsky RA. How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood. 2009;113(26):6522-6527. doi:10.1182/blood-2009-03-195966.

Cooper JP, Farah RJ, Stevenson PA, Gooley TA, Storb R, Scott BL. Hematopoietic Cell Transplantation for Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria in the Age of Eculizumab. Biol Blood Marrow Transplant. 2019;25(7):1331-1339. doi:10.1016/j.bbmt.2019.01.033.

Go RS, Winters JL, Kay NE. How I treat autoimmune hemolytic anemia. Blood. 2017;129(22):2971-2979. doi:10.1182/blood-2016-11-693689.

Greer, John & Arber, D.A. & Glader, B. & List, A.F. & Means, Robert & Paraskevas, F. & Rodgers, G.M. (2013). *Wintrobe's clinical hematology: Thirteenth edition*.

Jäger U, Barcellini W, Broome CM, et al. Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults: Recommendations from the First International Consensus Meeting. *Blood Rev.* 2020;41:100648.

Risitano AM, Marotta S, Ricci P, et al. Anti-complement Treatment for Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Time for Proximal Complement Inhibition? A Position Paper From the SAAWP of the EBMT. *Front Immunol.* 2019;10:1157. Published 2019 Jun 14. doi:10.3389/fimmu.2019.01157.

Hill QA, Stamps R, Massey E, Grainger JD, Provan D, Hill A. Guidelines on the management of drug-induced immune and secondary autoimmune, haemolytic anaemia. *Br J Haematol.* 2017 Apr;177(2):208-220.