



РЕДКИЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ И СИНДРОМЫ

RARE HEMATOLOGICAL TUMORS AND SYNDROMES

Клиническая манифестация и ошибки диагностики классической пароксизмальной ночной гемоглобинурии: анализ 150 наблюдений

*А.Д. Кулагин, О.У. Климова, А.В. Добронравов,
М.О. Иванова, Т.А. Рудакова, Е.В. Бабенко,
В.А. Добронравов, Б.В. Афанасьев*

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022

Clinical Manifestation and Errors in the Diagnosis of Classical Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: A case series of 150 patients

*AD Kulagin, OU Klimova, AV Dobronravov,
MO Ivanova, TA Rudakova, EV Babenko,
VA Dobronravov, BV Afanas'ev*

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6/8 L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022

РЕФЕРАТ

Актуальность. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) — редкое клональное заболевание крови, характеризующееся внутрисосудистым гемолизом, цитопенией и тромбозами. Диагностические ошибки с отсроченным диагнозом ПНГ встречаются часто вследствие разнообразия клинической картины и недостаточной осведомленности врачей об этом редком заболевании.

Цель. Охарактеризовать варианты клинической манифестации и сложности диагностики классической ПНГ.

Материалы и методы. В исследование включено 150 пациентов с классической ПНГ. Больные включались при: 1) наличии клинических и лабораторных признаков внутрисосудистого гемолиза; 2) верификации диагноза с помощью стандартной проточной цитометрии; 3) отсутствии критерияльных данных в пользу апластической анемии, миелодиспластического синдрома и первичного миелофиброза.

Результаты. Когорта включала 89 (59 %) женщин и 61 (41 %) мужчин. Медиана возраста составила 34 года (13–72 года). Время до установления диагноза варьировало от 0 до 455 мес. (медиана 33 мес.). Медиана размера клона ПНГ среди гранулоцитов и эритроцитов составила 95 и 41 % соответственно. Медиана уровня лактатдегидрогеназы достигала уровня, превышавшего верхнюю границу нормы в 7,2 раза. Цитопения имела место у 65 % больных, включая сочетание тромбоцитопении и нейтропении в 29 % случаев. Слабость и утомляемость (99 %), гемоглобинурия (57 %), болевые ощущения (52 %), желтуха (46 %), дисфагия (37 %) и инфекция/лихорадка (23 %) были наиболее частыми симптомами в дебюте заболевания. До установления диагноза ПНГ у 22 и 12 % пациентов диагностированы тромбозы и/или острые повреждения почек соответственно. Только у 22 % больных, включенных в настоящее исследование, ПНГ была распознана быстро. У остальных пациентов первичный диагноз был ошибочным.

ABSTRACT

Background. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a rare clonal hematopoietic stem cell disorder, characterized by intravascular hemolysis, cytopenia and thrombosis. Diagnostic errors with delayed diagnosis of PNH are often due to the variety of the clinical presentation and the lack of awareness of the doctors of this rare disease.

Aim. The aim of the study was to characterize the spectrum of clinical manifestations and the complexity of diagnosis of classical PNH.

Materials & Methods. The study included 150 patients with classical PNH. The inclusion criteria were: 1) clinical and laboratory signs of intravascular hemolysis; 2) verification of the diagnosis using standard flow cytometry; 3) absence of aplastic anemia, myelodysplastic syndrome and primary myelofibrosis.

Results. The study population consisted of 89 (59 %) women and 61 (41 %) men. Median age was 34 years (13–72 years). The time before the diagnosis ranged from 0 to 455 months (median 33 months). The median size of the PNH clone among granulocytes and erythrocytes was 95 % and 41 %, respectively. The median of the lactate dehydrogenase was 7.2 times the upper limit of normal (ULN). Cytopenia occurred in 65 % of patients, including a combination of thrombocytopenia and neutropenia in 29 % of cases. Weakness and fatigue (99 %), hemoglobinuria (57 %), pain (52 %), icterus (46 %), dysphagia (37 %) and infection/fever (23 %) were the most common symptoms on the onset of the disease. Before the diagnosis of PNH, thrombosis or acute kidney injury was found in 22 % and 12 % of patients, respectively. Only 22 % of patients were initially diagnosed with PNH. In the remaining patients, the primary diagnosis was incorrect.

Conclusion. The clinical manifestation of PNH is characterised by the presence of hemoglobinuria, cytopenia and early thrombosis in 57 %, 65 % and 22 % of patients, respectively. Errors of the primary diagnosis reach 78 % and lead to

Заключение. Клиническая манифестация классической ПНГ характеризуется наличием гемоглобинурии, цитопении и ранних тромбозов у 57, 65 и 22 % пациентов соответственно. Ошибки первичного диагноза достигают 78 % и приводят к неадекватному предшествующему лечению. Результаты исследования подчеркивают необходимость мультидисциплинарного взаимодействия и строгого соблюдения алгоритмов диагностики классической ПНГ в группах риска, согласно современным рекомендациям.

Ключевые слова: классическая пароксизмальная ночная гемоглобинурия, клон ПНГ, цитопения, клиническая манифестация, ошибки диагностики.

Получено: 20 февраля 2017 г.

Принято в печать: 8 мая 2017 г.

Для переписки: Александр Дмитриевич Кулагин, д-р мед. наук, проф., ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022; тел.: +7(812)338-62-36; e-mail: kulagingem@rambler.ru

Для цитирования: Кулагин А.Д., Климова О.У., Добронравов А.В. и др. Клиническая манифестация и ошибки диагностики классической пароксизмальной ночной гемоглобинурии: анализ 150 наблюдений. Клиническая онкогематология. 2017;10(3):333–41.

DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-333-341

inadequate treatment. The results of the study showed the need for multidisciplinary approach and strict adherence to diagnostic algorithms of PNH in the risk groups, according to current recommendations.

Keywords: paroxysmal nocturnal hemoglobinurea, PNH clone, cytopenia, clinical manifestation, diagnostic errors.

Received: February 20, 2017

Accepted: May 8, 2017

For correspondence: Aleksander Dmitrievich Kulagin, DSci, 6/8 L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022; Tel.: +7(812)338-62-36; e-mail: kulagingem@rambler.ru

For citation: Kulagin AD, Klimova OU, Dobronravov AV, et al. Clinical Manifestation and Errors in the Diagnosis of Classical Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: A case series of 150 patients. Clinical oncohematology. 2017;10(3):333–41 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-333-341

ВВЕДЕНИЕ

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) является редким и до настоящего времени трудно распознаваемым заболеванием крови. Согласно современной концепции патогенеза, ПНГ развивается в результате экспансии одного или нескольких клонов гемопоэтических стволовых клеток с соматической мутацией гена *PIG-A* в условиях иммуноопосредованной недостаточности кроветворения. Данный ген кодирует ранние этапы синтеза гликозилфосфатидилинозитоловой (GPI) якорной структуры, обеспечивающей прикрепление большого количества молекул на мембранах клеток крови [1]. Снижение экспрессии или отсутствие GPI-связанных ингибиторов комплемента CD55 и CD59 вызывает хронический комплемент-опосредованный внутрисосудистый гемолиз, который, в свою очередь, обуславливает широкий спектр клинических проявлений и осложнений ПНГ (слабость, гемоглобинурия, одышка, боль в животе и груди, головная боль, дисфагия, эректильная дисфункция, нефропатия, легочная гипертензия, тромбозы и др.) [2, 3]. При этом степень выраженности костномозговой недостаточности варьирует от полностью компенсированной за счет активного клонального кроветворения при классической форме заболевания до глубокой панцитопении при ПНГ у больных с приобретенной апластической анемией (АА) и, значительно реже, с миелодиспластическим синдромом (МДС) [3].

Естественное течение ПНГ характеризуется резким ухудшением качества жизни, высокой

частотой инвалидизации и летальности преимущественно вследствие тромбозов, достигающей 22–35 % в течение 5 лет [4, 5]. Это диктует необходимость клинической настороженности в отношении ПНГ и ранней диагностики в группах риска [3, 6]. Типичные клинические проявления гемолитической ПНГ описаны в нескольких национальных когортных исследованиях в отечественной и зарубежной литературе [4, 5, 7–10]. В России наиболее крупной была публикация Н.С. Турбиной, в которой представлены результаты анализа 108 больных, наблюдавшихся в ЦНИИГПК в период с 1961 по 1980 г. [11]. В течение последних десятилетий клинические представления о ПНГ существенно расширились благодаря выяснению молекулярно-генетических и иммунопатогенетических основ заболевания, детализации сложных взаимосвязей с костномозговой недостаточностью, стандартизации диагностики и оценки динамики клинических симптомов на фоне эффективного таргетного контроля гемолиза и активной работе Международного регистра ПНГ [12, 13].

Тем не менее редкость заболевания, разнообразие клинических проявлений внутрисосудистого гемолиза и отсутствие патогномоничных симптомов до настоящего времени обуславливают недостаточную осведомленность врачей о ПНГ, значительное число диагностических ошибок и, как правило, поздний диагноз. Парадоксально, но в большей степени эта проблема характерна для классической формы с отчетливым доминированием внутрисосудистого гемолиза и отсутствием глубокой цитопении. В то

же время при доказанной АА и МДС низкого риска тестирование на наличие клонов ПНГ входит в стандарты первичной диагностики, а при надлежащем наблюдении за пациентами возможно своевременное выявление признаков внутрисосудистого гемолиза [14, 15].

Вышеизложенное сделало актуальным проведение детального анализа вариантов клинической манифестации, ошибок первичного распознавания и терапевтической тактики в крупной когорте пациентов с установленной классической ПНГ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнялось на базе ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» и включало ретроспективную (диагноз установлен до 2010 г. включительно) и проспективную фазы (диагноз установлен в 2011–2016 гг.).

В исследование включались пациенты с классической ПНГ, диагностированной на основании следующих критериев: 1) наличие клинических и лабораторных признаков внутрисосудистого гемолиза; 2) подтверждение диагноза (наличия клона ПНГ) с помощью стандартного протокола проточной цитометрии, в т. ч. в случаях, первично диагностированных с помощью пробы Хема; 3) отсутствие на момент включения в анализ и в анамнезе критериальных данных в пользу других заболеваний системы крови (приобретенная АА, МДС, первичный миелофиброз) [3, 6].

Оценка клинических проявлений в дебюте заболевания проводилась на основе тщательного сбора анамнеза и анализа всей доступной медицинской документации (амбулаторные карты, истории болезни, выписки при направлении в ПСПбГМУ им. И.П. Павлова). Обязательной оценке подлежали симптомы внутрисосудистого гемолиза (слабость, потемнение мочи, боль в животе, спине и груди, дисфагия), потенциальные триггеры (пусковые механизмы) комплемент-опосредованного гемолиза (беременность, инфекции, оперативные вмешательства, травмы), осложнения ПНГ (тромбозы, эпизоды острого повреждения почек — ОПП), потребность в трансфузиях эритроцитной массы и все варианты лечения, использованные до установления диагноза ПНГ. Формальная оценка распознавания ПНГ на этапе первого обращения пациента к гематологу включала выявление гемолиза и первичный диагноз (ПНГ или ошибочный).

Дата дебюта заболевания определялась анамнестическим и/или документированным моментом возникновения первых симптомов, определенно связанных с внутрисосудистым гемолизом. Дата установления диагноза соответствовала первому тестированию клона ПНГ (проба Хема или проточная цитометрия).

Наличие и размер клона ПНГ определялись методом проточной цитометрии на основе анализа экспрессии GPI-якоря (FLAER) на гранулоцитах и моноцитах, а также GPI-связанных белков на гранулоцитах

(CD24), моноцитах (CD14) и эритроцитах (CD59), согласно подробно описанному протоколу [16].

Анализ проведен по состоянию на 1 января 2017 г. Описательные характеристики включали доли, медианы, межквартильные интервалы, диапазоны. Статистический анализ проводился с использованием программных пакетов STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На 1.01.2017 г. база данных ПСПбГМУ им. И.П. Павлова включала информацию о 301 пациенте с активной гемолитической ПНГ из 60 регионов Российской Федерации. Классическая форма ПНГ была установлена у 150 (49,8 %) больных. Ко времени проведения анализа под наблюдением оставалось 136 (90,6 %) пациентов. Медиана наблюдения после установления диагноза составила 4,8 года (диапазон 0–37 лет).

Исходные характеристики 150 больных с классической ПНГ приведены в табл. 1.

В когорте преобладали больные женского пола (59 %), медиана возраста в дебюте заболевания составила 27 лет (диапазон 9–70 лет). В большинстве случаев окончательный диагноз ПНГ был значительно отсроченным с медианой продолжительности заболевания 33 мес. (диапазон 0–455 мес.). В результате медиана возраста пациентов на момент установления диагноза классической ПНГ составила 34 года (диапазон 13–72 года).

Дебют заболевания в детском возрасте (до 18 лет) имел место у 21 (14 %) пациента с окончательным подтверждением диагноза ПНГ только у 5 (3,3 %) из них. У остальных 16 из 21 пациента диагноз ПНГ был установлен уже в возрасте старше 18 лет. Медиана времени до установления диагноза в этой подгруппе составила 61 мес. (диапазон 4–426 мес.).

В подавляющем большинстве случаев ($n = 145$; 97 %) размер клона, определяемый среди гранулоцитов, был более 60 %. Только в 5 случаях размер

Таблица 1. Общие характеристики пациентов с классической пароксизмальной ночной гемоглобинурией

Показатель	Число больных, n (%)
Всего больных, n (%)	150 (100)
Пол, n (%)	
Мужчины	61 (41)
Женщины	89 (59)
Медиана (диапазон) возраста, лет	
На момент дебюта ПНГ	26,9 (9,2–70,0)
На момент диагноза ПНГ	33,7 (12,9–71,9)
Срок установления диагноза, n (%)	
До 2000 г.	20 (13)
2000–2010 гг.	43 (29)
2011–2016 гг. (проспективная фаза)	87 (58)
Медиана (диапазон) времени от дебюта до установления диагноза ПНГ, мес.	33,2 (0–455)
Медиана (диапазон) наблюдения от установления диагноза ПНГ, годы	4,8 (0,03–36,7)

Таблица 2. Характеристика клона пароксизмальной ночной гемоглобинурии

Показатель	Значение		
	Медиана	Диапазон	Межквартильный интервал
Эритроциты II типа, %	4,99	0,0–95,53	1,21–12,98
Эритроциты III типа, %	29,8	0,01–98,6	16,5–47,0
Суммарный размер клона среди эритроцитов (II + III тип), %	41,02	0,01–99,2	26,8–63,8
Гранулоциты CD15+CD24–FLAER–, %	94,75	40,4–99,82	85,63–98,04
Моноциты CD64+FLAER–CD14–, %	93,87	17,3–99,9	85,05–97,7

Таблица 3. Исходные лабораторные характеристики пациентов с пароксизмальной ночной гемоглобинурией ($n = 150$)

Показатель	Значение		
	Медиана	Диапазон	Межквартильный интервал
Гемоглобин, г/л	64	22–116	56–76
Ретикулоциты, $\times 10^9/\text{л}^*$	150	25–830	95–226
Средний объем эритроцитов, fl**	97	68–126	89–106
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	150	19–615	87–232
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	3,80	1,50–14,13	2,80–5,00
Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$	1,94	0,32–7,49	1,38–2,86
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,36	0,27–6,72	1,01–1,94
Лактатдегидрогеназа, $\times \text{ВГН}$	7,23	1,51–21,45	4,72–9,95

ВГН — верхняя граница нормы.

* Оценено у 131 больного.

** Оценено у 98 больных.

клона среди гранулоцитов составлял 40–58 % (табл. 2). Медиана размера клона составила 95 и 94 % среди гранулоцитов и моноцитов соответственно. Вследствие активного гемолиза и трансфузий размер клона среди эритроцитов закономерно был меньше, медиана суммы клеток с частичным и полным дефицитом CD59 составила 41 %. При этом у 136 (91 %) больных имелось отчетливое доминирование эритроцитов III типа с полным отсутствием экспрессии CD59.

Ведущий первичный лабораторный признак заболевания — анемия, степень которой варьировала от минимальной до очень глубокой с медианой уровня гемоглобина 64 г/л (табл. 3). Потребность в трансфузиях эритроцитарной массы имела у 115 (77 %) больных.

Ретикулоцитарный ответ был прецизионно оценен в 131 случае и в подавляющем большинстве ($n = 108$; 82 %) был адекватным степени анемии или высоким ($> 80 \times 10^9/\text{л}$) с медианой $150 \times 10^9/\text{л}$. Важным эритроцитарным индексом при первичной оценке анемии ($n = 98$) стал средний объем эритроцитов (MCV), медиана которого составила 97 fl. Анемия может быть формально охарактеризована как микроцитарная ($< 80 \text{ fl}$), нормоцитарная (80–100 fl) и макроцитарная ($> 100 \text{ fl}$) у 8 (8 %), 49 (50 %) и 41 (42 %) больных соответственно.

Ко времени установления диагноза ПНГ 52 (35 %) пациента имели нормальный уровень тромбоцитов

**Рис. 1.** Распределение пациентов по наличию или отсутствию тромбоцитопении и нейтропении**Fig. 1.** Distribution of patients according to the presence or absence of thrombocytopenia and neutropenia

($> 150 \times 10^9/\text{л}$) и нейтрофильных гранулоцитов ($> 1,5 \times 10^9/\text{л}$) (рис. 1).

У остальных 98 (65 %) больных имела место цитопения: изолированная тромбоцитопения (29 %), изолированная нейтропения (17 %), а также сочетание тромбоцитопении и нейтропении (19 %). При этом глубина цитопении считалась умеренной при числе тромбоцитов менее $50 \times 10^9/\text{л}$ ($n = 14$; 9 %) и нейтрофилов менее $1 \times 10^9/\text{л}$ ($n = 18$; 12 %). Выраженная тромбоцитопения ($< 20 \times 10^9/\text{л}$) и нейтропения ($< 0,5 \times 10^9/\text{л}$) наблюдались только в 1 случае каждая ($19 \times 10^9/\text{л}$ и $0,32 \times 10^9/\text{л}$ соответственно), не сочетались друг с другом и не сопровождалась наличием критерияльной аплазии кроветворения в трепанобиоптате.

У всех пациентов имел место интенсивный внутрисосудистый гемолиз. Медиана уровня лактатдегидрогеназы (ЛДГ) во всей группе пациентов превышала верхнюю границу нормы (ВГН) в 7,2 раза (см. табл. 3). Минимальное исходное повышение уровня ЛДГ ($1,5\text{--}2 \times \text{ВГН}$) имелось только у 4 больных. Несмотря на это, в 2 случаях в дебюте заболевания развились тромботические осложнения, в т. ч. у 1 больного с летальным исходом.

Клиническая симптоматика и осложнения ПНГ, имевшиеся в дебюте и до момента установления окончательного диагноза заболевания, отражены на рис. 2.

Наиболее частыми жалобами и симптомами были слабость и утомляемость (99 %), эпизоды выделения темной мочи (57 %), болевые ощущения (52 %), желтушность кожи и слизистых оболочек разной степени выраженности (46 %) и дисфагия (37 %). Следует обратить внимание, что в отличие от слабости, гемоглобинурии, желтушности и боли, дисфагия редко отражалась в первичной медицинской документации и преимущественно фиксировалась при повторном сборе анамнеза.

Первые яркие клинические проявления внутрисосудистого гемолиза или гемолитический криз у ряда пациентов провоцировали инфекции, беременность, травмы и хирургические вмешательства. Так, инфекционные эпизоды ($n = 22$) или лихорадка ($n = 12$) до времени установления диагноза развились у 34 (23 %) больных. Важно, что ни в одном

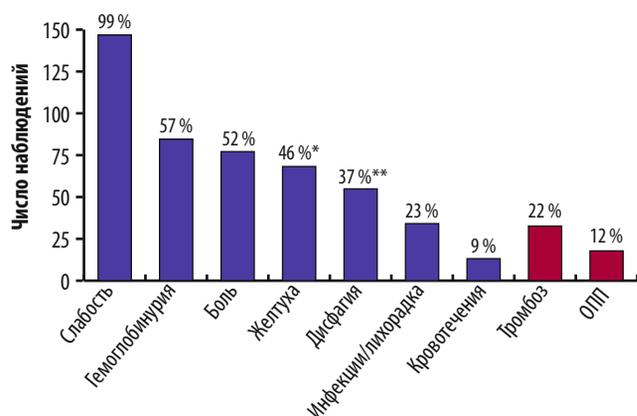


Рис. 2. Клинические проявления в дебюте классической пароксизмальной ночной гемоглобинурии ($n = 150$)

ОПП — острое повреждение почек.

* Оценено у 147 больных.

** Оценено у 144 больных.

Fig. 2. Clinical signs at the onset of classic paroxysmal nocturnal hemoglobinuria ($n = 150$)

ОПП — acute kidney injury.

* Estimated in 147 patients.

** Estimated in 144 patients.

из этих случаев абсолютное число нейтрофилов не было ниже $0,5 \times 10^9/\text{л}$, а медиана составила $2,64 \times 10^9/\text{л}$ (диапазон $0,616\text{--}7,489 \times 10^9/\text{л}$). При детальном анализе потенциальная связь инфекционного эпизода с нейтропенией прослежена только в 1 случае (пневмония при абсолютном числе нейтрофилов $0,65 \times 10^9/\text{л}$). В большинстве случаев имели место острые респираторные вирусные инфекции ($n = 19$), на фоне которых развивался гемолитический криз. Тяжелые инфекционные эпизоды (внебольничная пневмония — 2, неуточненная инфекция мочевых путей — 1) были зарегистрированы у 3 больных, получавших ранее глюкокортикостероидные гормоны, в 1 случае — циклофосфамид. Кроме того, у 12 больных была лихорадка во время развернутых гемолитических кризов, которая с учетом ее стереотипности при последующих кризах, вероятно, носила неинфекционный характер.

Из 89 женщин, включенных в анализ, в дебюте заболевания в условном репродуктивном возрасте (15–49 лет) была 81 пациентка (91 % всех женщин, 54 % всей когорты). В период от дебюта до установления диагноза наступление беременности и ее исход зарегистрированы у 17 (21 %) женщин, в т. ч. у 9 (11 %) болезнь впервые ярко проявилась во время беременности. Беременность была прервана на ранних сроках у 3 женщин, у 5 — самопроизвольное прерывание беременности, включая 1 случай антенатальной гибели плода. Родами завершились 9 беременностей (самопроизвольные — 5, оперативные — 4). Срок родоразрешения был задокументирован в 5 случаях, в 4 из них роды были преждевременными (29–37 нед.). Один из родившихся детей погиб на 29-й день жизни. Во всех случаях беременность сопровождалась нарастанием клинической симптоматики внутрисосудистого гемолиза, в т. ч. с развитием развернутых гемолитических кризов с абдоминальным синдромом, углублением анемии, тромбоцитопении, с потребностью в трансфузиях компонентов крови. В 4 случаях

Таблица 4. Осложнения классической пароксизмальной ночной гемоглобинурии

Осложнение	До верификации диагноза	После верификации диагноза	Всего
Манифестный тромбоз, n (%)	33 (22,0)	19 (12,7)	52 (34,7)
Острое повреждение почек, n (%)	18 (12,0)	10 (6,7)	28 (18,7)

имелись тяжелые осложнения после родоразрешения (тромбозы — 2, эпизоды ОПП — 3).

Среди других редких провоцирующих факторов первого тяжелого гемолитического криза отмечались тяжелый термический ожог кисти ($n = 1$), холецистэктомия ($n = 1$) и спленэктомия ($n = 1$), попытка проведения курса антитимоцитарного глобулина ($n = 1$).

Среди тяжелых осложнений ПНГ были проанализированы манифестные тромбозы и эпизоды острого повреждения почек (табл. 4).

В целом ко времени проведения анализа у 65 (43,3 %) больных развились указанные осложнения (тромбозы — 37, ОПП — 13, тромбозы и ОПП — 15). Во всей когорте классической ПНГ как минимум один манифестный тромбоз развился у 52 (34,7 %) больных. При этом в 33 (22 %) случаях тромботическое событие возникло до или на момент установления диагноза ПНГ, а в 8 (5,3 %) — установлено как первое клиническое проявление заболевания. У 10 больных до установления диагноза имелись повторные тромбозы. Эпизоды ОПП наблюдались у 28 (18,7 %) пациентов, в т. ч. у 18 (12 %) до верификации диагноза.

Только у 33 (22 %) больных была проведена относительно быстрая интерпретация клинико-лабораторной картины, в т. ч. подтверждение внутрисосудистого гемолиза, и уже на первом этапе был установлен правильный диагноз классической ПНГ. Медиана времени от дебюта до диагноза составила 6,9 мес. Специальный анализ клинической манифестации в данной группе пациентов не выявил существенных отличий от описанных выше в когорте в целом, за исключением более частой гемоглобинурии (76 %).

В остальных 117 (78 %) случаях первично были ошибочный диагноз или, чаще, несколько последовательных ошибочных диагнозов (рис. 3).

Спектр диагностических ошибок можно классифицировать по принципу распознавания гемолиза как такового. Принципиально важно, что только у 43 из 117 больных в первичной медицинской документации имелась констатация гемолиза, как правило гемолитической анемии (ГА), и проводился соответствующий дифференциальный диагноз. В 7 случаях ГА не уточнялась. Наиболее часто ($n = 28$) ошибочно диагностировалась аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА), в т. ч. в сочетании с другими диагнозами ($n = 7$) или в контексте синдрома Фишера—Эванса ($n = 2$). Следует обратить внимание на 3 случая интерпретации полной клинической картины ПНГ (гемолиз, тромбозы, тромбоцитопения, поражение почек) в рамках диагноза системной красной волчанки (СКВ) или СКВ с антифосфолипидным синдромом. В единичных случаях устанавливался диагноз неуточненной наследственной

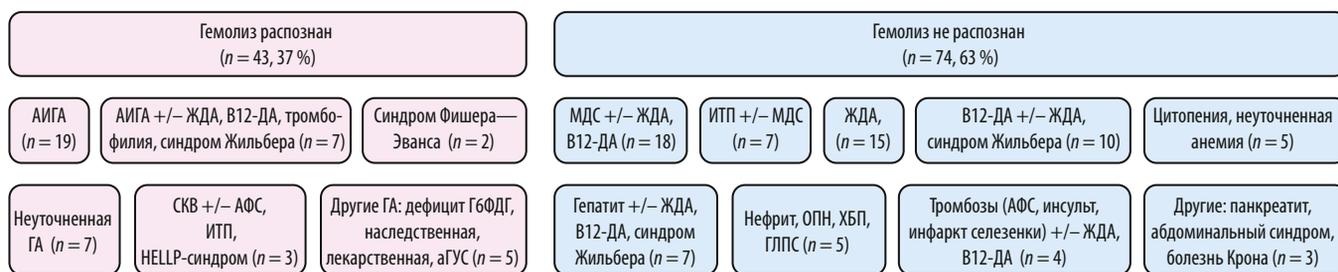


Рис. 3. Спектр первичных ошибочных диагнозов при классической пароксизмальной ночной гемоглобинурии

HELLP (Hemolysis, Elevated Liver enzymes and Low Platelets) — гемолиз, повышение активности печеночных ферментов и тромбоцитопения; аГУС — атипичный гемолитико-уремический синдром; АИГА — аутоиммунная гемолитическая анемия; АФС — антифосфолипидный синдром; В12-ДА — витамин В₁₂-дефицитная анемия; Г6ФДГ — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа; ГА — гемолитическая анемия; ГЛПС — геморрагическая лихорадка с почечным синдромом; ЖДА — железодефицитная анемия; ИТП — иммунная тромбоцитопения; МДС — миелодиспластический синдром; ОПН — острая почечная недостаточность; СКВ — системная красная волчанка; ХБП — хроническая болезнь почек.

Fig. 3. The spectrum of initial misdiagnoses in classic paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

HELLP — Hemolysis, Elevated Liver enzymes and Low Platelets; аГУС — atypical hemolytic uremic syndrome; АИГА — autoimmune hemolytic anemia; АФС — antiphospholipid syndrome; В12-ДА — В₁₂ vitamin deficiency anemia; Г6ФДГ — glucose-6-phosphatedehydrogenase; ГА — hemolytic anemia; ГЛПС — hemorrhagic fever with renal syndrome; ЖДА — iron deficiency anemia; ИТП — immune thrombocytopenia; МДС — myelodysplastic syndrome; ОПН — acute kidney failure; СКВ — systemic lupus erythematosus; ХБП — chronic kidney disease.

ГА, дефицита глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, лекарственной ГА и атипичного гемолитико-уремического синдрома.

Значительно чаще ($n = 74$) ошибочный диагноз устанавливался без распознавания гемолиза как такового и базировался на интерпретации анемии и цитопении или был синдромальным при оценке органных и тромботических осложнений. Типичными ошибочными диагностическими концепциями в этих случаях были МДС ($n = 18$), в т. ч. в сочетании с дефицитными состояниями, иммунная тромбоцитопения (ИТП) ($n = 7$) и дефицитные состояния в разных сочетаниях ($n = 25$). Констатация железодефицитной анемии во многих случаях формально не была ошибочной, однако данный диагноз носил лишь синдромальный характер. Следует отметить частую диагностику витамин В₁₂-дефицитной анемии, тогда как в действительности все пациенты с ПНГ имеют дефицит фолатов. Первичная оценка ПНГ в рамках синдромальных нефрологических диагнозов имела место у 5 больных. У 7 пациентов первичный диагноз был связан с первым установленным тромботическим эпизодом или абдоминальным болевым синдромом. Наличие желтухи и повышение активности АСТ (аспартатаминотрансферазы) и ЛДГ первично ошибочно трактовались как проявление гепатита ($n = 7$), а в дальнейшем диагноз нередко пересматривался в пользу синдрома Жильбера. Впрочем, следует отметить, что в ретроспективной когорте 9 зависимых от трансфузий пациентов были инфицированы вирусами гепатитов В ($n = 3$) и С ($n = 6$).

Ошибки диагностики закономерно приводили к неправильной терапевтической тактике (табл. 5). Использовались методы, направленные на контроль ошибочно диагностированных периферических иммунных цитопений (АИГА, ИТП).

В описанной когорте 94 (63 %) больных получали длительную терапию глюкокортикостероидными гормонами, 11 (7 %) — цитостатические препараты (азатиоприн, циклофосфамид, винкристин) и другие иммунодепрессанты (гидрохлорохин,

Таблица 5. Ошибочное лечение классической пароксизмальной ночной гемоглобинурии

Вид лечения	Число наблюдений, n (%)
Глюкокортикостероидные гормоны (длительная терапия)	94 (63,0)
Иммуносупрессивная терапия, в т. ч. в комбинациях	11 (7,3)
Азатиоприн	6 (4,0)
Циклофосфамид	4 (2,6)
Винкристин	1 (0,7)
Гидрохлорохин	1 (0,7)
Ритуксимаб	5 (3,3)
Спленэктомия	18 (12,0)
Гипометилирующие препараты, малые дозы цитарабина	2 (1,3)

ритуксимаб). У 18 (12 %) пациентов выполнена спленэктомия. В 2 случаях с ошибочным диагнозом МДС использовались гипометилирующие препараты и цитарабин в малых дозах. Обоснованность использования циклоспорина А при классической ПНГ дискутабельна. В анализируемой когорте циклоспорин А был назначен 16 пациентам по ошибочным показаниям (ИТП, АИГА, МДС).

ОБСУЖДЕНИЕ

ПНГ проявляется целым спектром клинических симптомов, обусловленных внутрисосудистым гемолизом и недостаточностью кроветворения [3]. Клиническая гетерогенность частично отражена в действующей классификации заболевания, которая подробно описана в Национальных рекомендациях по диагностике и лечению ПНГ [6]. Выделение классической формы ПНГ носит условный характер, поскольку с точки зрения как патогенеза, так и клинической динамики она тесно связана с иммуноопосредованной костномозговой недостаточностью. Так, при классической

форме может наблюдаться прогрессирующая недостаточность кроветворения и развиваться глубокая панцитопения и АА. В свою очередь, гемолитическая ПНГ, развивающаяся у больных с АА в анамнезе, может ничем не отличаться от классической формы при полном восстановлении кроветворения за счет клона ПНГ. В ряде случаев болезнь одновременно проявляется как интенсивным гемолизом, так и осложнениями цитопении.

Внедрение современной хорошо стандартизированной высокочувствительной проточной цитометрии сделало верификацию диагноза ПНГ быстрой и достоверной, что было показано в т. ч. в процессе валидизирующего исследования в России [16]. Однако осведомленность гематологов и врачей других специальностей об этом редком и гетерогенном заболевании остается весьма слабой, что приводит к значительным трудностям первичного распознавания ПНГ и, как правило, позднему диагнозу.

Главной целью настоящего анализа была максимально полная демонстрация вариантов клинической манифестации и ошибок диагностики классической ПНГ с превалированием клинических проявлений гемолиза. Настоящее исследование — одно из крупнейших в мире. За исключением данных Международного регистра ПНГ, аналогичные национальные когорты включали от 50 до 162 больных с классической формой заболевания [5, 7–10, 17].

В анализ включено 150 больных с клинически выраженной ПНГ, тщательно отобранных по принципу исключения критериального диагноза АА и МДС, в т. ч. в анамнезе. По опыту нашей группы удельный вес классической формы составляет около половины всех случаев ПНГ с активным гемолизом. Это подтверждается и соотношением числа новых пациентов с классической формой и гемолитической ПНГ при установленных АА или МДС, которое остается стабильно близким к 1:1 в последние 5 лет. По литературным данным, с учетом различий в критериях диагностики классическая форма составляет 26–71 и 18–62 % в европейских и азиатских когортах соответственно [5, 7–10, 17]. В целом формы с выраженной цитопенией чаще выявляются в исследованиях из Азии [18].

В анализируемой нами когорте $\frac{2}{3}$ больных имели цитопению, которая по глубине или в связи с монолинейностью не соответствовала критериям АА. Кроме того, отсутствие аплазии кроветворения в трепанобиоптатах костного мозга не позволяло диагностировать АА. При этом размер клона (медиана 95 %) и уровень ЛДГ (медиана $7,2 \times$ ВГН) отчетливо подтверждали ПНГ с выраженным гемолизом. Тем не менее систематизация ряда случаев с билинейной цитопенией может быть затруднена, в связи с чем некоторые исследовательские группы при диагностике АА/ПНГ не учитывают критерий документированной аплазии костного мозга и вводят понятие «промежуточная ПНГ» для трудно классифицируемых наблюдений [9].

Возраст ко времени диагностики ПНГ (медиана 34 года) и распределение больных по полу (59 % женщин) значимо не отличались от ранее опубликованных. При этом впервые установлен возраст на момент дебюта заболевания — 27 лет (медиана).

Эти данные в полной мере демонстрируют большую отсроченность установления диагноза классической ПНГ, что особенно заметно при анализе случаев, дебютировавших в детском возрасте.

Ключевыми результатами исследования стала детализация частоты отдельных симптомов и осложнений в дебюте заболевания, а также ошибок диагностики. Обнаружена более высокая частота гемоглобинурии (57 %) и болевого синдрома (52 %) в сравнении с литературными данными (26–50 и 13–18 % соответственно) [5, 7–10]. Вероятной причиной этого может быть строгий отбор пациентов с классической формой и наиболее выраженным внутрисосудистым гемолизом. Одновременно с этим показана недостаточная первичная документация дисфагии, которая при тщательном сборе анамнеза с разной степенью выраженности присутствовала у 37 % больных. Кроме того, у 8 % больных выявлена лихорадка с отсутствием других признаков инфекции, стереотипный характер которой в период гемолитических кризов позволяет относить ее к симптомам ПНГ, что редко обсуждается в литературе.

Важно отметить, что в период от дебюта до установления диагноза манифестные тромбозы и эпизоды ОПП развились у 22 и 12 % больных соответственно, в т. ч. тромбозы как первое клиническое проявление — у 5 %. В когортах из Великобритании, Франции и Японии тромбозы в дебюте ПНГ описаны у 6–7 % больных, тогда как в крупнейшем исследовании из США данный показатель достигает 19 % [5, 7–9]. Прогноз при развитии тромбозов на современном этапе в основном определяется быстротой инициации таргетной антикомплементарной терапии. В предшествующем анализе нашей группы летальность больных с тромбозами, не получавших таргетной терапии, достигала 46 % [19]. В связи с этим развитие тромбозов на самых ранних этапах болезни фактически означает вероятность летальных исходов до верификации диагноза.

Результаты исследования подтвердили роль провоцирующих факторов в нарастании гемолиза, в т. ч. в развитии тяжелых гемолитических кризов, среди которых особо следует отметить беременность. Причина этого в физиологической повышенной активации комплемента в период беременности и после родоразрешения [20]. Так, у женщин детородного возраста достаточно типичным оказался дебют заболевания в период беременности (11 %). Кроме того, еще в 10 % случаев беременность протекала до установления диагноза ПНГ. Во всех случаях беременность ассоциировалась с более тяжелым течением заболевания, а благоприятный исход с рождением живого ребенка имел место только у половины женщин. Прогноз усугублялся после родоразрешения в связи с развитием тромбозов и эпизодов ОПП в 24 % случаев. Аналогичные результаты были получены в большинстве исследований течения ПНГ при беременности до таргетной терапии [21].

В проведенном исследовании, впервые включившем крупную репрезентативную когорту, детализированы и систематизированы ошибки диагностики классической ПНГ, частота которых составила 78 %. Причинами диагностических ошибок были недо-

статочная осведомленность врачей, включая гематологов, о ПНГ как таковой и несоблюдение формальных алгоритмов оценки гемолиза, цитопении, тромбозов и др. Так, в случаях распознавания гемолиза (37 %) гематологами крайне редко документируется его внутрисосудистый характер, наличие гемоглинурии и гемосидеринурии, связанные с ним симптомы (боль, дисфагия) и осложнения (тромбозы, эпизоды ОПП), а самое главное — отрицательная прямая антиглобулиновая проба. В такой ситуации, как правило, первым и неверным диагнозом бывает АИГА, в т. ч. в сочетании с дефицитными состояниями, тромбозами, а при наличии тромбоцитопении — синдром Фишера—Эванса. В этой же группе ошибок следует отметить неверную интерпретацию сочетания гемолиза, поражения почек и тромбозов в рамках диагноза СКВ.

Вторая большая группа диагностических ошибок (47 %) связана с отсутствием распознавания гемолиза и интерпретации анемии, тромбоцитопении и нейтропении в рамках диагноза МДС, дефицитных состояний, ИТП или неуточненных цитопений. Особое место занимает гипердиагностика МДС, связанная с несоблюдением рекомендаций по критериальной оценке дисплазии в гранулоцитарном и мегакариоцитарном ростках, тогда как в эритроидном она всегда присутствует при ПНГ [22]. В этом аспекте важно подчеркнуть, что тестирование клона ПНГ представляется обязательным исследованием при первичной диагностике МДС без повышения числа бластных клеток [3, 6]. Не исключая возможность эволюции ПНГ в МДС и связь между данными клональными процессами, следует признать, что в случаях отчетливого гемолиза и выявления большого клона ПНГ (как правило, выше 70–80 %) диагноз МДС становится сомнительным. Косвенно это подтверждается тем, что ни в одном из случаев первичного диагноза МДС к моменту проведения анализа не выявлены избыток бластных клеток и трансформация в ОМЛ.

Еще одна большая группа диагностических ошибок (16 %) определялась неверной интерпретацией клинических симптомов и осложнений ПНГ как проявлений самостоятельных болезней печени, почек, тромбозов и др. Данный сценарий часто реализовался без своевременного участия гематологов.

Большое количество ошибок и длительный период до установления диагноза ПНГ (медиана 33 мес.) приводят к использованию неадекватных методов лечения, среди которых следует отметить длительную терапию глюкокортикостероидными гормонами, использование иммунодепрессантов и спленэктомии. Предшествующее установлению достоверного диагноза ПНГ неправильное лечение может служить дополнительным фактором риска развития тромбозов и инфекционных осложнений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Классическая ПНГ является трудно распознаваемым редким заболеванием крови. В настоящем крупном исследовании с использованием строгих критериев и современных методов верификации диагноза удалось детализировать варианты клинической манифе-

станции и диагностические ошибки при классической ПНГ.

Манифестация классической ПНГ характеризуется наличием гемоглинурии, тромбоцитопении и/или нейтропении и ранних тромбозов у 57, 65 и 22 % пациентов соответственно. Высокая частота ошибок первичного диагноза и длительный период распознавания ПНГ приводят к неадекватному предшествующему лечению пациентов. Результаты исследования подчеркивают необходимость строгого соблюдения алгоритмов диагностики ПНГ в группах риска в рамках мультидисциплинарного взаимодействия.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: все авторы.

Сбор и обработка данных: А.Д. Кулагин, О.У. Климова.

Предоставление материалов исследования: все авторы.

Проточная цитометрия: Е.В. Бабенко.

Анализ и интерпретация данных: все авторы.

Подготовка рукописи: А.Д. Кулагин, О.У. Климова.

Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Takeda J, Miyata T, Kawagoe K, et al. Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cell*. 1993;73(4):703–11. doi: 10.1016/0092-8674(93)90250-T.
2. Rother RP, Bell L, Hillmen P, Gladwin MT. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. *JAMA*. 2005;293(13):1653–62. doi: 10.1001/jama.293.13.1653.
3. Parker C, Omine M, Richards S, et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2005;106(12):3699–709. doi: 10.1182/blood-2005-04-1717.
4. Hillmen P, Lewis SM, Bessler M, et al. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med*. 1995;333(19):1253–8. doi: 10.1056/NEJM199511093331904.
5. Socie G, Mary JY, de Gramont A, et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: long-term follow-up and prognostic factors. *French Society of Haematology. Lancet*. 1996;348(9027):573–7. doi: 10.1016/S0140-6736(95)12360-1.
6. Кулагин А.Д., Лисуков И.А., Птушкин В.В. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглинурии. *Онкогематология*. 2014;9(2):20–8. doi: 10.17650/1818-8346-2014-9-2-20-28.
7. [Kulagin AD, Lisukov IA, Ptushkin VV, et al. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Oncohematology*. 2014;9(2):20–8. doi: 10.17650/1818-8346-2014-9-2-20-28. (In Russ)]
8. Dacie IV, Lewis SM. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: clinical manifestation, haematology, and nature of the disease. *Series Haematol*. 1972;5(3):3–23.
9. Nishimura J, Kanakura Y, Ware RE, 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. doi: 10.1097/01.md.0000126763.68170.46.
10. de Latour RP, Mary JY, Salanoubat C, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories. *Blood*. 2008;112(8):3099–106. doi: 10.1182/blood-2008-01-133918.

- 10.** Ge M, Li X, Shi J, et al. Clinical features and prognostic factors of Asian patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: results from a single center in China. *Ann Hematol.* 2012;91(7):1121–8. doi: 10.1007/s00277-012-1413-6.
- 11.** Гаврилов О.К., Файнштейн Ф.Э., Турбина Н.С. Депрессии кроветворения. М.: Медицина, 1987. 256 с.
[Gavrilov OK, Fainshtein FE, Turbina NS. *Depressii krovetvoreniya.* (Hematopoeisis depressions.) Moscow: Meditsina Publ.; 1987. 256 p. (In Russ)]
- 12.** Moyo VM, Mukhina GL, Garrett ES, Brodsky RA. Natural history of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria using modern diagnostic assays. *Br J Haematol.* 2004;126(1):133–8. doi: 10.1111/j.1365-2141.2004.04992.x.
- 13.** Schrezenmeier H, Muus P, Socie G, et al. Baseline characteristics and disease burden in patients in the International Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Registry. *Haematologica.* 2014;99(5):922–9. doi: 10.3324/haematol.2013.093161.
- 14.** Kulagin A, Lisukov I, Ivanova M, et al. Prognostic value of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clone presence in aplastic anaemia patients treated with combined immunosuppression: results of two-centre prospective study. *Br J Haematol.* 2014;164(4):546–54. doi: 10.1111/bjh.12661.
- 15.** Kulagin A, Golubovskaya I, Ivanova M, et al. Incidence and risk factors for hemolytic paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) in aplastic anemia (AA) patients. *Bone Marrow Transplant.* 2014;49(Suppl 1):S42–3. doi: 10.1038/bmt.2014.43.
- 16.** Sipol AA, Babenko EV, Borisov VI, et al. An inter-laboratory comparison of PNH clone detection by high-sensitivity flow cytometry in a Russian cohort. *Hematology.* 2015;20(1):31–8. doi: 10.1179/1607845414Y.0000000162.
- 17.** Kim JS, Jang JH, Yoon SS, et al. Distinct subgroups of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) with cytopenia: results from South Korean National PNH Registry. *Ann Hematol.* 2016;95(1):125–33. doi: 10.1007/s00277-015-2511-z.
- 18.** Yu F, Du Y, Han B. A comparative analysis of clinical characteristics of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria between Asia and Europe/America. *Int J Hematol.* 2016;103(6):649–54. doi: 10.1007/s12185-016-1995-1.
- 19.** Kulagin A, Klimova O, Dobronravov A, et al. Incidence, clinical characteristics and outcome of symptomatic thromboembolic events (TE) in 276 patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts).* 2016;128(22):5072.
- 20.** Richani K, Soto E, Romero R, et al. Normal pregnancy is characterized by systemic activation of the complement system. *J Mat Fet Neonat Med.* 2005;17(4):239–45. doi: 10.1080/14767050500072722.
- 21.** de Guibert S, de Latour RP, Varoqueaux N, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and pregnancy before the eculizumab era: the French experience. *Haematologica.* 2011;96(9):1276–83. doi: 10.3324/haematol.2010.037531.
- 22.** Nakao S. Diagnostic problems in acquired bone marrow failure syndromes. *Int J Hematol.* 2016;104(2):151–2. doi: 10.1007/s12185-016-2057-4.

