

**Роль плазмафереза в комплексном лечении осложнений пароксизмальной
ночной гемоглобинурии, протекающей в сочетании с
катастрофическим антифосфолипидным синдромом и наследственной
комбинированной тромбофилией**

Б.Т.Джумабаева, Н.В.Цветаева, Л.С.Бирюкова, С.А.Васильев, Г.А.Суханова,
В.С.Шавлохов, Н.Н.Калинин, И.Б. Капланская, О.А Худолеева

(Гематологический научный центр, г Москва, директор академик А.И. Воробьев)

Резюме.

Представлен клинический случай пароксизмальной ночной гемоглобинурии в сочетании с катастрофическим антифосфолипидным синдромом и наследственной тромбофилией, осложнившейся развитием острой почечной недостаточности, тромбоэмболией легочной артерии и тромбозом мезентеральных артерий. Адекватная интенсивная антикоагулянтная и антиагрегантная терапия, больше объемный плазмаферез с эквивалентным замещением свежзамороженной плазмой, заместительная терапия гемодиализом позволяет ликвидировать тромботические осложнения и восстановить функцию почки. При тромбозе мелких ветвей мезентеральных артерий без признаков перитонита и при наличии небольших очагов некроза оправдана выжидательная тактика в применении оперативного хирургического вмешательства.

Ключевые слова:

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ), катастрофический антифосфолипидный синдром (КАФС), тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА), острая почечная недостаточность (ОПН), тромбоз брыжеечной артерии, плазмаферез, тромбофилия, РА1-1, метилентетрогидрофолтретдуктаза

Введение.

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) - это приобретенная, клональная форма гемолитической анемии, связанная с изменением структуры мембраны эритроцитов, нейтрофилов и тромбоцитов, обусловленная соматической мутацией гена фосфатидилинозитол-гликана класса А (PIG-A), вследствие чего нарушается синтез гликолипида - гликозилфосфатидилинозитола (GPI). Этот гликолипид необходим для фиксации на клеточной мембране целого ряда белков, в том числе DAF (CD55), MIRL (CD59). Отсутствие на мембране эритроцитов CD55 и CD59 повышает их чувствительность к литическому действию комплемента (C5).

Для ПНГ характерна хроническая гемолитическая анемия, протекающая иногда в виде кризов, перемежающаяся или постоянная гемоглобинурия и гемосидеринурия. Внутрисосудистый гемолиз часто приводит к развитию тромбозов, преимущественно в венозных сосудах в 14.4% [1]. В большинстве случаев развивается тромбоз в системе печеночных, нижней полой, портальной и брыжеечных вен, реже наблюдается тромбоз синусов твердой мозговой оболочки [2; 3], селезеночной вены. В 22 -25% тромбоз венозных сосудов служит причиной смерти больных [1]. Тромбоз артериальных сосудов при ПНГ встречается редко. Описаны единичные случаи тромбоза коронарной, легочной и церебральных артерий [4]. Ранняя диагностика и лечение осложнений ПНГ определяет прогноз болезни.

Приводим клинический случай.

История болезни и лечение.

У больного К.М.Н., 17 лет первый эпизод гемолиза наблюдался в декабре 2006г. На фоне острого вирусного заболевания отмечено потемнение мочи, желтушность кожи. Пациент находился в клинике по месту жительства с диагнозом доброкачественная гипербилирубинемия, стеатогепатит. В последующем постоянно по утрам наблюдалась коричневая моча, больной не обследовался. В конце августа 2007г на фоне высокой температуры тела до 38-39°C в течение несколько дней беспокоила диарея, боли в поясничной области,

стал отмечать желтушность кожных покровов. Больной был госпитализирован 06.09.2007г в клинику по месту жительства. При обследовании выявлена анемия (Hb 50г/л, эритроциты $2.1 \times 10^{12}/л$), ретикулоцитоз (36%), небольшое снижение уровня тромбоцитов ($170-190 \times 10^9/л$), гипербилирубинемия преимущественно за счет непрямой фракции. На второй день пребывания в стационаре развилась анурия. Терапия преднизолоном по 90 мг в течение 3-х дней не позволил купировать гемолиз. Проводилась заместительная терапия гемодиализом через день, трансфузия эритроцитарной массы (2 дозы). Для дальнейшего обследования и лечения в 11.09.2007г больной переведен в Гематологический научный центр. При поступлении сохранялась анурия, субфебрильная лихорадка ($37 - 37.7^{\circ}C$), выраженная слабость. При осмотре отмечалась выраженная бледность кожи с желтушным оттенком, иктеричность склер; в нижних отделах легких справа на фоне ослабленного дыхания выслушивалась крепитация; при выслушивании сердце определялся систолический шум по левому краю грудины, определялась тахикардия (ЧСС 96 в мин), артериальное давление было в норме (135/80 мм. рт. ст.); размеров печени и селезенки увеличены на 2 см.;- суточный диурез составлял 50 - 100мл, моча была темно – коричневого цвета.

При обследовании: нормохромная анемия (Hb 41г/л), ретикулоцитоз (41%), количество лейкоцитов ($6.1 \times 10^9/л$) и тромбоцитов ($200 \times 10^9/л$) были в норме; гипопропротеинемия (общий белок сыворотки крови 51 г/л), гипоальбуминемия (22 г/л); уровни билирубина (12 мкмоль/л), трансаминаз (АсТ 26 и/л, АлТ 17 и/л) и щелочной фосфатазы (61 и/л) были в пределах нормальных цифр; значительное увеличение лактатдегидрогеназы (1562 и/л), мочевины (34.2 ммоль/л), креатинина (807 мкмоль/л) и калия (7,5 ммоль/л). В моче определялся гемосидерин. Свободно циркулирующих антител к тромбоцитам, лейкоцитам не выявлено. Прямая проба Кумбса отрицательная. Тест Хэма и сахарозная проба отрицательные. В коагулограмме показатели АЧТВ (38 сек), протромбиновый индекс (84%), тромбиновое время (15сек), фибриноген (2г/л), а также физиологические антикоагулянты были в пределах

нормы, но отмечалось замедление ХПа зависимого фибринолиза (38 минут) и определялся волчаночный антикоагулянт в высоком титре ($R = 2.5$), хотя уровень к кардиолипину (IgG - 3.3 МЕ/мл и IgM - 2.9 МЕ/мл) были в пределах нормальных значений, что не исключало развитие антифосфолипидного синдрома (АФС).

На компьютерной томограмме (КТ) органов грудной клетки выявлена правосторонняя нижнедолевая пневмония. При сцинтиграфии определено очаговое нарушение регионарного кровотока в обоих легких, больше справа. По данным УЗИ подтверждено увеличение размеров печени (левая доля 116x73мм, правая доля 170x114мм) и селезенки (130x50мм), а также выявлено увеличение размеров обеих почек (правая 146x67мм, паренхима 21мм; левая 149x62 мм, паренхима 19мм) с изменением структуры и умеренным повышением эхогенности коркового вещества. При дуплексном сканировании вен нижних конечностей не выявлен тромбоз печеночных, селезеночных, подвздошных вен и вен нижних конечностей, а также нижней полой вены.

Учитывая начало заболевания с диареи, лихорадки, клинические и лабораторные признаки гемолитической анемии и развитие острой почечной недостаточности (ОПН), изменения на КТ и сцинтиграфии легких, выставлен предварительный диагноз: Энтеровирусная инфекция. Гемолитико-уремический синдром. ОПН. Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА). Правосторонняя нижнедолевая пневмония.

Причина внутрисосудистого гемолиза оставалась не ясной, аутоиммунный его генез не подтверждался. Доказательств ПНГ не обнаружено. Высокий титр циркулирующего волчаночного антикоагулянта и наличие признаков ОПН и ТЭЛА не исключало развитие АФС, что в значительной мере определило лечебную тактику у данного больного. Весь комплекс экстренных лечебных мероприятий был направлен на ликвидацию ведущего тромбогенного статуса. С первого дня госпитализации больному в Гематологический научный центр проводилась: антикоагулянтная терапия (гепарин по 1000 ЕД в час, круглосуточно); плазмаферез с замещением свежзамороженной плазмой

(СЗП) до 1 литра; гемодиализ; трансфузия отмытых эритроцитов №2 дозы, эмперическая антибактериальная терапия (цефобид по 2г в сутки). На второй день терапии у больного восстановлен диурез, снижена азотемия. На 3-5 день наблюдения суточный диурез достиг 4000 – 4500 мл. Однако, на 5-й день лечения (15.09.2007г.) на фоне относительного улучшения состояния больного стали беспокоить боли в животе, без определенной локализации и вздутие живота. Дежурными врачами не исключалось желудочно-кишечное кровотечение, поэтому была уменьшена доза гепарина до 500ЕД в час. В течение суток сохранялись постоянные боли в животе, отсутствие стула, метеоризм, повышение температуры тела до 38°С градусов. К утру 17.09.2007г увеличилось вздутие живота, появились симптомы раздражения брюшины, не выслушивалась перистальтика кишечника. В гемограмме: гемоглобин держался на уровне 68г/л, отмечалась лейкопения (1.4×10^9 /л), количество тромбоцитов составляло 196×10^9 /л. В коагулограмме определялось укорочение АЧТВ-23 сек, снижение активности АТШ - 66%, протеина С - 45% и S -35% и обнаруживался высокий уровень Д – димеров-1950 мкг/л. Полученные данные указывали на развитие гиперкоагуляции, депрессию противосвертывающей системы и фибринолитической активности. А также определено возрастание титра волчаночного антикоагулянта до R- 2.6, но по прежнему не обнаружены антитела к кардиолипинам.

При УЗИ в брюшной полости выявлено незначительное количество жидкости, обилие газов в кишечнике, единичные мелкие горизонтальные уровни жидкости в просвете тонкой кишки. На обзорной рентгенограмме свободный газ в брюшной полости отсутствовал. В этот же день с подозрением на тромбоз мезентеральных сосудов, перитонит произведена диагностическая лапаротомия. При ревизии брюшной полости обнаружены множественные мелкие некротические участки тощей кишки от 0,5 до 1,5см в диаметре на протяжении 1.5м, с перифокальным отеком и гиперемией без признаков перфорации и перитонита (*рис 1*). Данная картина подтверждала тромбоз мелких сосудов в системе верхней брыжеечной артерии.

Учитывая поверхностный характер и относительно небольшие размеры некротических участков на стенке тощего кишечника, отсутствие признаков перфорации и перитонита, решено было воздержаться от резекции кишки и интенсифицировать консервативное лечение. С целью декомпрессии произведена интубация тонкой кишки силиконовым зондом до пораженного отдела с последующей активной аспирацией. Выполнен плазмаферез: первые 3 дня с удалением 3-х литров плазмы, что соответствовало 65% объема циркулирующей крови, в последующем проводилась эксфузия по 1 л плазмы с адекватным замещением СЗП. Проведение больше объемного плазмафереза было направлено на удаление фосфолипидов мембран разрушенных эритроцитов, волчаночного антикоагулянта, поддерживающих тромбогенный потенциал крови, продуктов катаболизма и цитокинов. Истощение антикоагулянтов и системы фибринолиза требовало эквивалентного возмещения СЗП. Увеличена доза гепарина до 2200ЕД в час, круглосуточно (до 52800 ЕД в сут). Уровень АЧТВ колебался в пределах 90-100 сек при контроле 27-32сек. Назначен антиагрегант - трентал по 200 мг в день внутривенно. Проводилось парентеральное питание с содержанием белка 1.5г/кг, в сутки 3000ккал. Учитывая результаты бактериологического исследования кала, где было обнаружено умеренное повышение титра кишечной палочки (3×10^9) и наличие *Candida albicans* произведена смена антибактериальной терапии, назначен тиенам вместо цефобиды с учетом чувствительности флоры и добавлен противогрибковый препарат, дифлюкан 200мг в сутки.

В 1-е сутки на фоне указанной терапии интенсивность абдоминальных болей уменьшилась; на 2 -е сутки боли полностью купировались, появилась вялая перистальтика кишечника; на 3 – 5 сутки отмечалась активизация перистальтики кишечника; на 6 сутки восстановился самостоятельный стул. В последующие 10 дней доза гепарина была снижена до 1800 ЕД в час (АЧТВ в 2-3 раза больше контроля). Состояние больного постепенно улучшалось: не повторялся абдоминальный болевой синдром, восстановлена функция кишечника и почек; купирована ТЭЛА; нормализовались размеры печени,

селезенки и почек; регрессировали признаки пневмонии; уровень гемоглобина возрос до 103г/л, однако определялся по-прежнему гемосидерин в моче. С периода купирования признаков тромбоза мезентериальных сосудов плазмаферез проводилась через день в объеме 1 л с замещением СЗП в течение одного месяца. Дозу гепарина постепенно снижалась до 1500ЕД в час и в последующем переведен на фраксин по 10000 МЕ в сутки под /кожу живота. Пациент продолжал получать трентал по 200мг в сутки. Через 1,5 месяца больной был выписан в удовлетворительном состоянии для амбулаторного наблюдения.

При обследовании на полиморфизм генов свертывания крови выявлена: гомозиготная мутация генов PAI-1, метилентетрогидрофолатредуктазы, метионин – синтазы редуктазы; гетерозиготная мутация генов тромбоцитарного рецептора фибриногена, интегрин альфа-2. Выявлена гипергомоцистеинемия (36мг/л). В миелограмме определена умеренная клеточность, не обнаружено нарушение дифференциации клеток как гранулоцитарного, так и эритроцитарного ряда, отмечен лимфоцитоз 24.5% и моноцитоз 6%, Л:Э 2,6:1. В трепанбиоптате отмечена умеренная гипоплазия кроветворной ткани. В клеточном её составе определялись элементы всех трех ростков гемопоэза с преобладанием эритрокариоцитов. Число мегакариоцитов местами были увеличены. (рис 2). При гистологическом исследовании биоптата кожи обнаружена картина панваскулита гиперплазия эндотелия сосудов и умеренные периваскулярные лимфо-гистоцитарные инфильтраты (рис 3). Методом проточной флуориметрии при повторных обследованиях через пол года выявлен клон эритроцитов с иммунофенотипом GlyA+/CD55-/CD59-, что увеличился с 23% до 47%. (рис 4). Тест Хэма, сахарозная проба и тест Хеглина-Майера стали положительными за период наблюдения через год.

Указанные результаты обследований и данные клинического наблюдения позволили установить диагноз: Пароксизмальная ночная гемоглобинурия с развитием катастрофического антифосфолипидного синдрома (КАФС). Васкулит не ясного генеза. Острая почечная недостаточность, анурия, уремия.

Тромбоз мелких мезентеральных сосудов в системе верхней брыжеечной артерии. Множественные некрозы тонкой кишки. ТЭЛА с развитием правосторонней нижнедолевой пневмонии.

Наследственная комбинированная тромбофилия, обусловленная гомозиготной мутацией генов PAI-1, метилентетрогидрофолатредуктазы, метионин – синтазы редуктазы и гетерозиготной мутацией генов тромбоцитарного рецептора фибриногена, интегрин альфа-2. Гипергомоцистеинемия.

Обсуждение.

Известно, что существуют три клинических формы ПНГ: как самостоятельное заболевание; ПНГ с предшествующей гипоплазией костного мозга, которая встречается в 10-20% случаях [5]; ПНГ как синдром, сопровождающий ряд заболеваний, в частности апластическую анемию в 15-30% [6], миелодиспластический синдром в 8% [7], миелопролиферативные заболевания, острый лейкоз, метастазы рака в кости []. Особенностью представленного случая является клиническая манифестация ПНГ с тяжелых тромботических осложнений, спровоцированных комплексом причин. Внутрисосудистый гемолиз сам по себе провоцирует тромбообразование, риск которого возрастает при наследственной тромбофилии, присоединении инфекции, развитии васкулита. В свою очередь тромбоз сосудов усугубляется гемолизом.

При поступлении больного в гематологический научный центр рассматривалось в дифференциальном аспекте возможность ПНГ, но не был выявлен патологический клон эритроцитов с иммунофенотипом GlyA+/CD55-/CD59- и все тесты Хэма, сахарозная проба, тест Хеглина – Майера были отрицательны. Только повторные обследования, после завершения ургентной терапии и трансфузий донорских эритроцитов, позволили обнаружить патологический клон эритроцитов, выявить нарушение осмотической резистентности их мембран и подтвердить диагноз ПНГ, а также определить её первостепенное значение в запуске патологического процесса. Проводилась дифференциальная диагностика ПНГ не только со схожими с ним

патологическими процессами (тромботическая тромбоцитопеническая пурпура, гемолитикоуремический синдром, аутоиммунная гемолитическая анемия), но и рассматривался вопрос сочетание ПНГ с КАФС. Гемолиз и васкулит в сочетании с развитием за короткое время тромбозом мелких ветвей верхней брыжеечной и легочной артерий на фоне уже проводимой антикоагулянтной терапии и плазмафереза, а также активация свертывающей и подавление противосвертывающей, фибринолитической систем, возрастание уровня волчаночного антикоагулянта указывало о присоединение КАФС.

Ранняя диагностика тромботических осложнений и начало интенсивной терапии предотвратил летальный исхода больного с ПНГ, при котором тромбогенный риск был провоцирован присоединением КАФС, васкулитом и сопутствующей наследственной тромбофилией. Наиболее эффективным при терапии тромботических осложнений у пациента явился комплекс лечебных мероприятий, включающий: адекватную антикоагулянтную и антиагрегантную терапию; больше-объемный плазмаферез с эквивалентным замещением СЗП, при которых удалялись антифосфолипидные антитела (АФА), а СЗП являлся источником антикоагулянтов и факторов фибринолитической системы; заместительная терапия гемодиализом. Применение гепарина и создание выраженной гипокоагуляции является обязательным моментом терапии. Эффективность терапии гепарином обусловлена не только его антикоагулянтными свойствами, но и противовоспалительной активностью, а также направлена на предотвращение образования в циркуляции медиаторов системного воспалительного ответа (АФА, цитокинов, продуктов активации комплемента и др.), играющих ведущую роль в патогенезе КАФС [8; 9; 10]. Учитывая отсутствие признаков перфорации, перитонита и наличие не обширных некротических участков решено воздержаться от резекции протяженной части кишки с множественными участками некроза. Отказ от резекции и интенсивная антикоагулянтная терапия, больше объемный плазмаферез позволил получить у пациента положительный эффект, что позволяет считать, что резекция кишки не прерывает запущенный круг

патоморфологических процессов, а наоборот приводит к неконтролируемому тромбогенному «взрыву» и к фатальному исходу.

Заключение: Представленный случай свидетельствует о том, что развитие тромбогенных осложнений может оказаться дебютом ПНГ. При сочетании ПНГ с КАФС, васкулитом и наследственной тромбофилией неизбежны тяжелые тромботические осложнения. Своевременная диагностика и раннее подключение адекватной антикоагулянтной терапии, больше-объемного плазмафереза позволяет не только купировать тромботические осложнения и предупреждает их возникновения.

Список литературы

1. Hall C, Richards S, Hillmen P. Primary prophylaxis with warfarin prevents thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood*. 2003;102:3587–3591;
2. Alfaro A. Cerebral venous thrombosis in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1992 May;55(5):412.
3. Shetty S, Ghosh K. Thrombophilic dimension of Budd chiari syndrome and portal venous thrombosis - A concise review. *Thromb Res*. 2010 Oct 19.
4. Reinhart WH. Between thrombosis and bleeding - a case of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Ther Umsch*. 2010 Dec;67(12):609-12.
5. Rosse WF, Dacie JV. Immune lysis of normal human and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) red blood cells. I. The sensitivity of PNH red cells to lysis by complement and specific antibody. *J Clin Invest*. 1966;45:736–748;
6. Dunn DE, Tanawattanacharoen P, Boccuni P, Nagakura S, Green SW, Kirby MR, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells in patients with bone marrow failure syndromes. *Ann Intern Med*. 1999;131:401–8.
7. Barrett AJ, Saunthararajah Y, Molldrem J. Myelodysplastic syndrome and aplastic anemia: distinct entities or diseases linked by a common pathophysiology? *Semin Hematol*. 2001;37:15–29.
8. Uthman I, Shamsrddine A.,Taher A. The role of therapeutic plasma exchange in the catastrophic antiphospholipid syndrome. *Transfus Apher Sci*. 2005 Aug 33(1):11-7).
9. Asherson R.A. The Catastrophic Antiphospholipid Syndrome (Asherson s Syndrome). Monograph.- Johannesburg, 2005.
10. Vora S.K., Asherson R.A., Erkan D. Catastrophic antiphospholipid syndrome // *J. Int. Cae Med*.-2006.-Vol.21.-P.144-159.

11. Clark DA, Butler SA, Braren V, Hartmann RC, Jenkins DE, Jr. The kidneys in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 1981;57:83–89
12. 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;83:193–207.
13. Chan W.S., Anand S., Ginsberg J.S Anticoagulation of pregnant women with mechanical heart valves: a systematic review of the literature. *Arch Intern Med*. 2004,160(2):191-6;
14. Caccavo D., Vaccaro F., Ferri G.M., Amoroso A., Bonomo L. Anti-idiotypes against antiphospholipid antibodies are present in normal polyspecific immunoglobulins for therapeutic use. *J Autoimmun*. 1994 Aug 7 (4): 537-48.)
15. Asherson R.A., Cervera R., Piette J.C. et al. Catastrophic Antiphospholipid Syndrome: clues to the pathogenesis from the series of 80 patients // *Medicine (Baltimore)*.-2001.-Vol.80 (6).-p.355-377.
16. Cervera R., Font J., Gomez-Puerta J.A.. et al. Catastrophic Antiphospholipid Syndrome Registry Project Group. Validation of the preliminary criteria for the classification of catastrophic antiphospholipid syndrome // *Ann. Reum. Dis.*- 2005/-Vol.64.-P/ 1205-1209.
17. del Papa N., Guidali L., Salq Q. et al. Endothelial cell as target for antiphospholipid antibodies // *Arthritis Reum.*- 1997.-Vol.40.-P. 551-561.
18. Vora S.K.< Asherson R.A., Erkan D. Catastrophic antiphospholipid syndrome // *J. Int. Case Med.*-2006.-Vol.21.-P.144-159.