

JAKÁ JE VAŠE DIAGNÓZA? – ODPOVĚDI

Otázky:

1. Lze opakovaný nálezk krvi v moči zjištěný testovacími proužky hodnotit jako doklad hematurie?
2. Jakou pracovní diagnózu pro další postup vyšetření navrhuje?

Odpovědi:

1. Detekční proužky k chemickému vyšetřování moči prokazují peroxidační účinky hemu, který je součástí hemoglobinu i myoglobinu. Nález bílkoviny odpovídá přítomnosti globulinu v moči. Tímto vyšetřením tak nelze od sebe precizně odlišit hematurii, hemoglobinurii a myoglobinurii. Proto po pozitivním výsledku s testovacími proužky musí vždy následovat mikroskopické vyšetření močového sedimentu. Při hemoglobin-/myoglobinurii není žádnou výjimkou diskrepance mezi výrazně pozitivním nálezem krve při vyšetření moči testacím proužkem a nálezem v močovém sedimentu, který může být zcela normální.
2. Hemolytická anémie, nejspíše neimunního původu, provázená hemoglobinurií.

Komentář

Diferenciální diagnostika hemolytických anémií je poměrně široká (graf 1), a proto jsme v dalším průběhu hospitalizace u dívky provedli rozsáhlé spektrum vyšetření. Rozhodující závěr přinesla flowcytometrie (FCM), kdy na erytrocytech byla prokázána snížená exprese antigenu CD59 na populaci 54% erytrocytů (obrázek 1). Tento nález tak umožnil určit konečnou diagnózu: Paroxysmální noční hemoglobinurie (PNH). V literatuře je choroba označována také jako Marchiafava-Micheliho syndrom.

PNH je i u dospělých vzácné onemocnění (poněkud více převažují muži), výskyt v dětském věku je raritní. V učebnicích je PNH obvykle uváděna ve skupině získaných intrakorpulárních hemolytických anémií. Současně však bývá řazena mezi tzv. klonální onemocnění, u nichž je primárně alterována kmenová buňka a následně jsou produkovány abnormální buněčné populace (1). Pro snazší pochopení je vhodné připomenout, že na membránách většiny buněk jsou přítomny četné proteinové struktury, z nichž některé představují receptor pro komplement, jiné, označované také jako regulační molekuly, mají funkci kontroly nevhodné aktivace komplementu. Mezi regulační molekuly patří např. faktor urychlující rozpad (DAF/CD55)

a membránový inhibitor reaktivního rozpadu (MIRL/CD59). Tyto proteiny jsou k buněčné membráně „ukotveny“ pomocí glykosylfosfatidylinositolu (GPI). Jeho syntéza je kódována genem PIG-A (fosfatidylinositol glykan třídy A). S ohledem na nové patofyziologické poznatky je recentní etiopatogeneze PNH vysvětlována jako X-vázaná somatická mutace genu PIG-A (5). Výsledkem této mutace je biochemický defekt podmiňující abnormální citlivost membrány erytrocytů ke komplementu. Tím je umožněna jednak snadná intravaskulární hemolýza, dále pak hyperkoagulace, defektní hematopoeze a zvýšené riziko infekcí.

Našemu sdělení nepřísluší uvádět komplexní molekulárně genetické aspekty PNH, přesto je však nutné pro úplnost k výše uvedenému dodat, že GPI-deficitní buněčné klonys nejsou typické pouze pro PNH, ale bývají prokazovány také u pacientů s aplastickou anémií/myelodysplastickým syndromem/akutní leukémií/myeloproliferativními syndromy. V důsledku dysfunkce regulačních mechanismů organismu pak dochází k tomu, že může převládat populace somatických buněk nemutovaných nad buněčnými klonys mutovanými a obráceně. Převažující populace buněk pak vede k manifestaci PNH nebo zmiňovaných hematologických onemocnění, přitom je možné jejich vzájemné překrývání (6). Tyto aspekty uvádíme proto, že se promítají do složitější diagnostiky a léčby těchto chorob.

Klinický obraz PNH je modelován různě intenzivní kombinací tří skupin symptomů. První z nich reprezentují intermitentní epizody hemolytické anémie, v jejichž průběhu nemocní močí tmavě hnědou moč a to zejména v noci/časných ranních hodinách. Intravaskulární hemolýza vede ke zvýšení koncentrace volného hemoglobinu v plazmě. Ten zpočátku tvoří komplexy s haptoglobinem. Po vyčerpání kapacity haptoglobinu zbývající volný hemoglobin ve formě dimerů prochází glomerulární membránou. V tubulárním úseku nefronu jsou tyto dimery jednak reabsorbovány, jednak vylučovány do moči. Z frakce, která je resorbována, se uvolňuje železo a jako hemosiderin se ukládá především v kůře ledvin. V epizodách hemolýzy je tak u nemocných s PNH v moči testacími proužky prokazována krev a pokud není mikroskopicky vyšetřen močový sediment, může být tento stav mylně považován např. za některou glomerulopatii. Jedná se však o hemoglobinurii. Při běžné světelné mikroskopii lze v močovém sedimentu prokázat žlutohnědá granula hemosiderinu (při použití berlínské modři se zbarví modře). Další

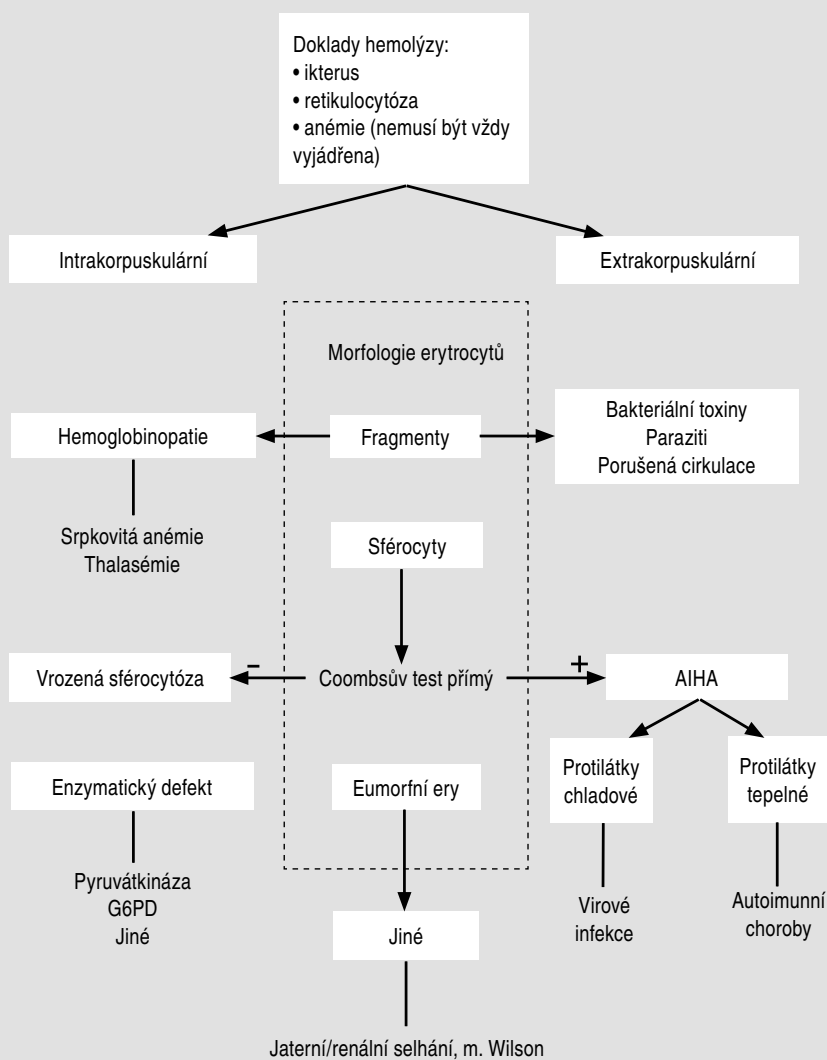
skupina příznaků PNH je ovládána snadným rozvojem žilních trombóz zejména v portálních řečišti a splachnické oblasti, ale i v mozku, myokardu nebo podkoží. Pacienti tak mohou mít bolesti břicha (střevní nekrózy) provázené nechutenstvím a zvracením, jindy mají bolesti hlavy nebo očí, je možná manifestace v podobě infarktu myokardu (2). Závažnou komplikací představuje Budd-Chiariho syndrom, kdy dochází k trombóze jaterních žil provázené hepatomegalií, ascitem a ikterem. Průběh může být rychlý a fatální, jindy je pozvolný, s projevy progredujícího jaterního selhání. Trombóza sinus sagitalis vede k intrakraniální hypertenzi s edémem očních papil. Trombotické okluze v dermální oblasti mají charakter červenavých, nad kožní povrch prominujících bolestivých uzlů, jejich lokalizace je různá. Třetí skupina příznaků má svůj původ v porušené hematopoeze. Bývá tak vyjádřena anémie/neutro-/trombocyto-/pancytopenie. Kostní dřev je většinou hypercelulární, se známkami zvýšené erytropoézy.

Dominujícím laboratorním nálezem u pacientů s PNH je hemolytická anémie asociovaná s typickými laboratorními nálezy (retikulytáza, nekonjugovaná hyperbilirubinémie, zvýšení sérové koncentrace celkové LDH (v izoenzymech LDH_{1,2}), snížený plazmatický haptoglobin, urobilinogen v moči). Vlivem opakovaných močových ztrát hemoglobinu je anémie u PNH makrocytární, doprovázena zvýšenou hladinou erytropoetinu, u části pacientů bývá sideropenie. V některých případech lze zastihnout hypoplázii/aplázií kostní dřevě. Ultrasonograficky bývají prokazovány trombotické okluze především ve splachnické oblasti, k zobrazení obdobného postižení CNS dává nejlepší výsledky magnetická rezonance. Pomocí této metody mohou být dobře detekována depozita hemosiderinu v ledvinách.

Jako screeningový lze k průkazu PNH provést Hamův test, kdy po okyselení séra je indukována komplementem zprostředkovaná hemolýza defektních erytrocytů. Podobně lze využít i sacharózový test Hartmanův založený na zjištění, že v izotonickém nízkointonovém roztoku dochází v přítomnosti komplementu k urychlení hemolýzy. Moderní laboratorní diagnostika PNH využívá FCM prokazující snížení exprese znaků CD55 a CD59 na membráně erytrocytů nebo na jiných klonální změnou postižených buňkách (4, 8). Ještě citlivější než FCM je analýza označovaná FLAER (pomocí fluorescence určuje přímo defekt vazby GPI).

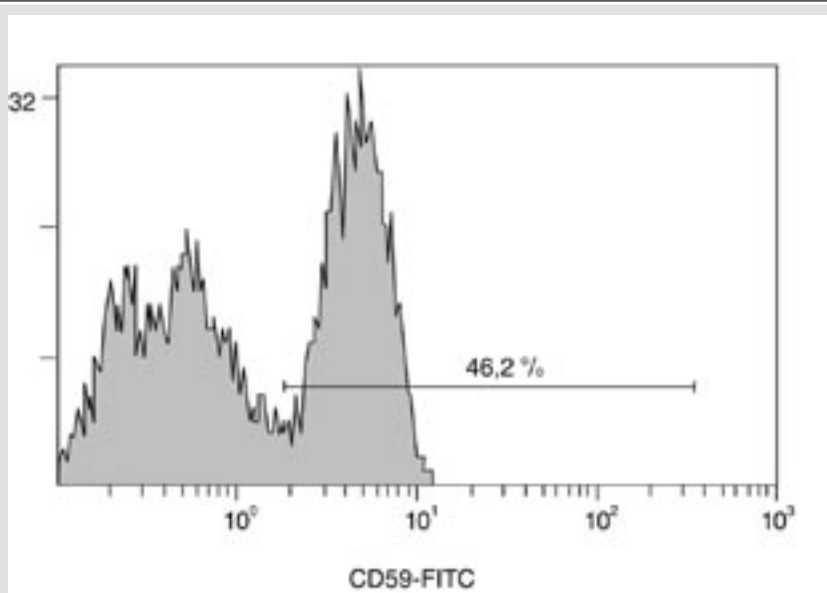
Léčba PNH je zaměřena podle dominujících příznaků. Průběh akutních hemolytických

Graf 1. Možný přístup k analýze hemolytické anémie



AIHA – autoimunní hemolytická anémie, G6PD – glukózo-6-fosfátdehydrogenáza

Obrázek 1. Flowcytometrický záznam prokazující dvouvrcholovou intenzitu exprese antigenu CD59, 54% erytrocytů je tedy patologických



epizod může ovlivnit podání kortikoidů, erytrocytární transfúzi se v některých případech nevyhne. V případech výrazné sideropenie je nezbytná substituce železem. Trombotické komplikace vyžadují léčbu antikoagulační, v indikovaných případech je nutná trombolýza. V literatuře je v terapii PNH uváděno také použití léčiv, která svým účinkem potlačují tvorbu patologického buněčného klonu, jde např. o cyklofosfamid, cyklosporin A nebo antitymocytní/antilymfocytní globulin. U některých nemocných je vhodné zvážit alogenní transplantaci kostní dřeně/kmenových buněk, futurologicky se uvažuje o genové terapii (3, 7). Průběh a prognóza PNH jsou značně interindividuální, u některých pacientů probíhají závažné hemolytické krize a opakované žilní trombózy, u jiných je průběh latentní a symptomatologie nevýrazná. Vysoce rizikové je těhotenství žen s PNH.

Naše pacientka měla přítomny mnohé z uvedených symptomů – proběhlo u ní několik atak různě intenzivní hemolýzy provázené změnou barvy moči a příznaky ze zažívacího traktu. Diskrepance mezi nálezem krve v moči při vyšetření testovacími proužky a mikroskopickým vyšetřením močového sedimentu byla jedním z faktorů, který určil směr našeho dalšího vyšetřování. Cílená analýza pak prokázala v moči hemosiderin i volný hemoglobin. Významné dále bylo, že dívka měla přesvědčivě vyjádřeny laboratorní doklady hemolýzy a hyperkoagulace. V období akutní hemolýzy, ale také později při stabilizovaném klinickém nález u pacientky bylo ultrasonografické vyšetření orgánů dutiny břišní, vč. dopplerovského hodnocení průtoku (portální žíla, jaterní žíly, žíly ledvinové, dolní dutá žíla, v. mesenterica sup., v. lienalis) zcela normální, trombóza nikdy nebyla detekována. Zavádějící se mohly jevit vysoké hodnoty CRP. Dynamika tohoto parametru však byla taková, že zvýšení CRP bylo u pacientky vázáno vždy na epizodu hemolýzy, v dalších 36–48 hodinách pak docházelo k jeho dramatickému snížení/normalizaci. Punktát kostní dřeně dívky korespondoval s nálezy uváděnými u PNH (dřeň byla poměrně chudá na buněčné elementy, dysplastická, v popředí byla dyserytropoéza a relativní útlum myelopoézy). V rámci široce zaměřených vyšetření byl u nemocné proveden test Hamův a Hartmanův, oba s pozitivním výsledkem. Před znalostí konečné diagnózy jsme pacientce přechodně podávali menší dávky kortikoidů, krátkodobě také nízkomolekulární heparin, krevní transfúze nebyla nutná. Po diagnostickém závěru je dívka nyní pravidelně profylakticky aplikován warfarin a je ve sledování hematologickém i nefrologickém (u některých jedinců s PNH dochází k postupnému rozvoji chronického selhání ledvin).

Literatura

1. Catlett JP. Hemolytic anemias. In: Humes HD (Ed). *Kelley's Textbook of Internal Medicine*, 4th ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2000; 1769–1788.
2. Hyafil F, Montalescot G, Amoura Z et al. Images in cardiovascular medicine. Recurrent myocardial infarction in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Circulation*, 2003; 108: e91–2.
3. Johnson RJ, Hillmen P. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: nature's gene therapy. *Mol Pathol*, 2002; 55: 145–152.
4. Kraus JS. Laboratory diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Ann Clin Lab Sci*, 2003; 33: 401–406.
5. Maugard C, Marguerite G, Tuffery S et al. Recurrent PIG-A mutation in a paediatric case of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: detection by protein truncation test. *Br J Haematol*, 1997; 98: 21–24.
6. Meletis J, Terpos E. Recent insight into the pathophysiology of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Med Sci Monit*, 2003; 9: 161–172.
7. Meyers G, Parker CJ. Management issues in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Int J Hematol*, 2003; 77: 125–132.
8. Verswijvel G, Vanbeckevoort D, Maes B et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Nephrol Dial Transplant*, 1999; 14: 1586–1589.