

Складна міждисциплінарна патологія: епідеміологія, діагностика і сучасні підходи до терапії хвороби Гоше в Україні

19-21 травня 2021 року в Києві відбулася науково-практична конференція «Нові можливості та невирішені питання гематології». Ця подія без перебільшення значуща як для Асоціації гематологів України, так і для всіх лікарів суміжних спеціальностей, адже багатьом із них доводиться мати справу з пацієнтами, в яких виявлено патологію крові. Під час робочої програми було заслухано доповіді на такі актуальні теми, як впровадження сучасних протоколів лікування гематологічних і онкогематологічних захворювань, реєстр і подальше амбулаторне і профілактичне лікування хворих на гемофілію; мовилося також і про практичні аспекти ведення пацієнтів з онкогематологічною патологією. Особливу увагу було приділено діагностиці й лікуванню пацієнтів із хворобою Гоше (ХГ) – вона стала темою окремого сателітного симпозиуму.

Ключові слова: глюкоцереброзидаза, хвороба Гоше, ферментний аналіз, хітотріозидаза, гепатоспленомегалія, тромбоцитопенія, кістковий криз, ферментна замісна терапія, іміглюцераза, велаглюцераза альфа, таліглюцераза альфа



Проблемним питанням діагностики ХГ присвятила свій виступ завідувач відділення гематології Київського обласного онкологічного диспансеру, голова ГО «Асоціація гематологів України», експерт робочої групи МОЗ України за напрямом «Орфанні захворювання», кандидат медичних наук Ірина Радомирівна Гартівська.

Хвороба Гоше – найпоширеніше вроджене схильне до прогресування захворювання лізосомального накопичення, зумовлене дефектом гена, який відповідає за синтез лізосомального гідролітичного ферменту глюкоцереброзидази. У результаті дефіциту останньої в лізосомах макрофагів накопичується патологічний субстрат глюкоцереброзид. Унаслідок цього функція макрофагів порушується, і вони перетворюються на клітини Гоше. Оскільки глюкоцереброзидаза міститься в макрофагах усіх тканин, ХГ вважається поліорганною патологією, при якій у патологічний процес залучаються кістки, печінка, легені й селезінка і яка загрожує життю.

Тип успадкування ХГ аутосомно-рецесивний. Захворювання з однаковою частотою спостерігається в жінок і чоловіків. На сьогодні описано понад 200 мутацій, що призводять до дефекту ферменту глюкоцереброзидази, зниження його стабільності й активності. Частота ХГ становить 1 випадок на 40-60 тис загальної популяції, а серед євреїв ашкеназі – 1 випадок на 500 осіб.

Виділяють три основних типи захворювання:

- I тип – не невропатична (вісцеральна) форма, найпоширеніша (95% випадків), має хронічний перебіг і не супроводжується неврологічними порушеннями;
- II тип – гостра невропатична форма, яку діагностують у дітей віком 1-2 роки та яка характеризується злоякісним перебігом і високим рівнем смертності;
- III тип – підгостра невропатична форма, яку діагностують у підлітків.

Станом на 2020 рік в Україні перебуває на обліку 58 пацієнтів із ХГ, із них – 4 пацієнти з III типом захворювання.

Таким чином, частота ХГ I типу в Україні в 14 разів, а III типу – в 100 разів нижча, ніж загалом у світі. Подібна картина, імовірно, зумовлена гіподіагностикою цього стану, що пов'язано з недостатньою обізнаністю медичної спільноти щодо цього орфанного захворювання. Це стосується переважно педіатрів, сімейних лікарів, гастроентерологів і дитячих і дорослих гематологів, до яких зазвичай звертаються пацієнти.

Крім складнощів у діагностиці проблемними залишаються питання забезпечення препаратами ферментної замісної терапії (ФЗТ) і переведення з одного препарату на інший. Забезпеченість пацієнтів препаратами замісної терапії складає приблизно 70%. Сьогодні на фармацевтичному ринку України присутні три препарати замісної терапії ХГ: іміглюцераза, велаглюцераза і таліглюцераза. Зауважимо, що всі три препарати є оригінальними і не поступаються один одному в ефективності і безпеці.

Переведення пацієнтів на економічно вигідніший із засобів дасть можливість забезпечити більшу частку пацієнтів, що отримують ФЗТ, а також вивільнить кошти для лікування інших орфанних захворювань. На жаль, часто лікарі бояться переводити пацієнтів з іміглюцерази на велаглюцеразу альфа чи таліглюцеразу альфа, незважаючи на позитивний досвід таких країн, як Австралія, Сербія, Албанія і Канада.



Із власним досвідом ведення пацієнтів із ХГ від діагностики до лікування на прикладі двох клінічних випадків поділилася з учасниками конференції завідувач відділення інтенсивної хіміотерапії ДУ «Інститут гематології та трансфузіології АМН України» (м. Київ), доктор медичних наук, професор Світлана Олексіївна Сівкович.

Складнощі діагностики ХГ, крім невисокої частоти патології в популяції, зумовлені її мультисимптомністю і безліччю захворювань з аналогічною симптоматикою, зокрема таких як злоякісні новоутворення, онкологічні захворювання крові (лейкемія, лімфома, множинна мієлома, хронічна гранулоцитарна лейкемія), аутоімунні захворювання, цироз печінки та інші.

В основі моделі ведення пацієнтів із ХГ лежить своєчасна діагностика патології до розвитку незворотних ускладнень. Початкові прояви ХГ I типу характеризуються такими гематологічними ознаками: спленомегалія, анемія, тромбоцитопенія і схильність до кровотеч. Часто відповідні скарги і зміни в клінічному аналізі крові стають приводом для направлення пацієнта до гематолога.

Основні клінічні симптоми ХГ I типу зазвичай представлені затримкою фізичного і статевого розвитку в дітей, гепатоспленомегалією, астеничним і геморагічним синдромами, болем у кістках, у тому числі кістковими кризами. Розвиток ускладнень призводить до порушення

рухливості в суглобах (унаслідок розвитку асептичного некрозу) і патологічних переломів.

Золотим стандартом лабораторної діагностики ХГ є ферментний аналіз, за допомогою якого визначають активність глюкоцереброзидази в лейкоцитах крові або фібробластах шкіри. У разі ХГ результат дослідження становить менше 30% від нормальної активності ферменту. Ще одним ферментом, визначення активності якого є важливим для встановлення ступеня тяжкості хвороби і результативності лікування, є хітотріозидаза. Пацієнтам із підозрою на ХГ також потрібні молекулярний аналіз і консультація генетика.

Зміни в загальному аналізі крові (ЗАК), які можуть вказувати на наявність ХГ: анемія; лейкопенія і тромбоцитопенія різного ступеня тяжкості. Біохімічний аналіз крові (БАК) дає уявлення про рівні трансферину і феритину сироватки крові.

Діагностично важливою ознакою при ХГ є гіперферитинемія, яку спостерігають у 87% пацієнтів із I типом захворювання.

Випадковою знахідкою при біопсії кісткового мозку можуть стати клітини Гоше. Але варто пам'ятати, що при різних патологічних станах можуть бути виявлені псевдоклітини Гоше. Такими станами є множинна мієлома, мієлодисплазія і мієлодиспластичні синдроми, хронічна мієлоїдна лейкемія, туберкульоз легень, мікобактеріоз і серпоподібноклітинна анемія. Це дає підстави вважати зазначений метод діагностики недостатньо специфічним і чутливим. Утім біопсія кісткового мозку може бути показана пацієнтам із ХГ і підозрою на наявність супутньої гематологічної патології.

Після підтвердження діагнозу варто зосередитися на комплексній оцінці всіх аспектів захворювання для встановлення вихідних характеристик, визначення типу ФЗТ, розробки індивідуальних терапевтичних цілей і стратегії моніторингу стану здоров'я хворого. Під час прийняття рішення стосовно лікування треба оцінити тяжкість захворювання і показники якості життя.

Особливо важливою є ретельна оцінка кісток скелету, оскільки можуть несподівано виникати незворотні ускладнення, що призводять до інвалідизації.

Наступним кроком після оцінки тяжкості захворювання є підбір відповідної ФЗТ. Результати Кокранівського огляду показали, що впродовж першого року ФЗТ різні рекомбінантні препарати є біоподібними і зіставними щодо безпеки й ефективності (табл. 1).

Таким чином, лікування пацієнтів із ХГ доцільно проводити будь-яким доступним препаратом для ФЗТ. Лікар має забезпечити пацієнтові:

Таблиця 1. Порівняльна ефективність різних рекомбінантних препаратів для ФЗТ при ХГ I типу (Elad Sh. et al., 2015)

	Іміглюцераза Grabowski, 1994	Велаглюцераза Zimran, 2010	Таліглюцераза Zimran, 2011
Кількість пацієнтів	15	12	16
Гемоглобін	+23,7	+19,2	+19,3
Тромбоцити	+43,5	+67,6	+72,1
Розмір печінки	-21,4	-18,2	-11,1
Розмір селезінки	-47,1	-49,5	-38,0
Хітотріозидаза	NA	-74,2	-50,0

Таблиця 2. Критерії клінічної класифікації ступеня тяжкості ХГ I типу в дорослих

Ступінь тяжкості	Легкий	Помірний (принаймні один із наведених критеріїв, але не тяжкого ступеня)	Тяжкий (один або кілька з наведених критеріїв)
Терапія	Динамічний нагляд	30 Од/кг/2 тиж внутрішньовенно	60 Од/кг/2 тиж внутрішньовенно
Гемоглобін, г/дл	>10	8<10	<8
Тромбоцити, /мм ³	>100 000	50 000-100 000	<50 000
Розмір печінки (MN) [об'ємна магнітно-резонансна або комп'ютерна томографія (МРТ, КТ)]	<1,25	1,25 – 2,5	>2,5
Розмір селезінки (MN) (згідно з результатами МРТ або КТ)	<5	5 – 15	>15
Ураження скелету МРТ	Нормальна інтенсивність / легке зменшення інтенсивності сигналу на МРТ T1/T2	Значне зменшення інтенсивності сигналу на МРТ T1/T2	Кістковий криз
Двоенергетична рентгенівська абсорціометрія (ДЕРА)	Незначна остеопенія (МЩКТ: Z-показник не нижче -1,5 SD)	Помірна остеопенія (МЩКТ: Z-показник від -1,5 до -2,5 SD)	Надмірна остеопенія (МЩКТ: Z-показник не нижче -2,5 SD)
Рентгенографія	Деформація у вигляді колби Ерленмейєра	Асимптоматичні ділянки аваскулярного некрозу	<ul style="list-style-type: none"> Аваскулярний некроз Патологічні переломи Хронічні болі в кістках Зміщення суглобів
Відсоток жиру в кістковому мозку (Ff) Метод: QCSI (якщо доступний)	Ff >23% (норма: 27% < Ff <55%)	Ff <23%	
Активність хітотріозидази	<15 000 (або <7500 у носіїв мутацій хітотріозидази)	>15 000 (або >7500 у носіїв мутацій хітотріозидази)	

- доступ до ФЗТ і безперервного лікування;
- необхідну дозу засобу ФЗТ відповідно до тяжкості перебігу захворювання згідно з критеріями клінічної класифікації (табл. 2);
- лікування супутніх захворювань для уникнення подальших ускладнень ХГ;
- покращення якості життя.

Для кращого розуміння практичних аспектів ведення пацієнтів із підозрою на ХГ розглянемо два клінічні випадки.

Клінічний випадок 1

Пацієнт, 75 років. Уперше діагноз ХГ встановлено 1998 року, підтверджено в Національній дитячій спеціалізованій лікарні (НДСЛ) «ОХМАТДИТ» 2011 і 2018 року:

- ферментний аналіз – зниження активності бета-глюкозидази до 2,7 ммоль/год/мг (норма $\geq 4,1$ ммоль/год/мг);

- молекулярна діагностика ХГ – виявлено два гетерозиготних патогенних варіанти гена GBA, аутосомно-рецесивний тип успадкування;
- концентрація глюкозилцераміду (lyso-GB1) – 762,0 нг/мл (норма $\leq 10,0$ нг/мл).

В анамнезі: резекція селезінки в 1998 році; гепатомегалія, деформівний артроз правого кульшового суглоба (2006 рік), III група інвалідності. Під час огляду скаржився на слабкість, втому, біль у кістках, кульшових суглобах, лівому коліні.

МРТ кульшових суглобів виявила ознаки правобічного коксартрозу III ступеня з дифузними патологічними змінами структури кісткового мозку стегнової кістки та ацетабулярної западини праворуч, які, ураховуючи анамнестичні дані, можуть відповідати остеонекрозу на тлі ХГ. МР-ознаки помірного ексудативно-проліферативного синовіту правого кульшового суглоба з вільними хондромними тілами; лівобічного коксартрозу II ступеня на тлі

феморо-ацетабулярного імпінджменту за змішаним кулачково-пінцетним типом, лівобічного зовнішнього синдрому клацання стегна. МР-ознаки вогнищ остеонекрозу в кістках таза зазначеної локалізації, стрес-реактивних змін крижової кістки. Системний остеопороз.

З 2019 року почав ФЗТ таліглуцеразою альфа в дозі 60 Од/кг 1 раз на 2 тижні. Періодично відбувалися перерви в лікуванні, які супроводжувалися погіршенням стану хворого. З грудня 2020 року отримує ФЗТ на постійній основі. На жаль, ФЗТ розпочато після розвитку незворотних кісткових змін, тому повний регрес симптомів неможливий. Утім застосування ФЗТ навіть на цьому етапі захворювання запобігає подальшому прогресуванню ускладнень і підтримує якість життя хворого.

Клінічний випадок 2

Пацієнт, 72 роки. Уперше діагноз ХГ встановлений 2011 року у зв'язку зі спленомегалією, яка супроводжувалася синдромом гіперспленізму, тромбоцитопенією (мінімальний рівень – 30 тис). Діагноз підтверджений у НДСЛ «ОХМАТДИТ» 2019 року:

- проведена стерильна пункція – виявлені клітини Гоше;
- ферментний аналіз – зниження активності бета-глюкозидази до 2,2 ммоль/год/мг;
- молекулярна діагностика ХГ – виявлена мутація Asn409Ser у гені GBA в гомозиготному стані.

Основні скарги: біль в епігастрії, збільшення живота, носові кровотечі, підвищена стомлюваність.

ЗАК на момент призначення ФЗТ: тромбоцити – 39 тис/мм³, швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) 56 мм/год.

УЗД органів черевної порожнини (ОЧП): Печінка і селезінка рівномірно збільшені. Структура селезінки дифузно неоднорідна, виявляються гіперехогенні вогнища діаметром 28-48 мм.

Денситометрія – МЩКТ відповідає помірній остеопенії.

ФЗТ розпочато наприкінці 2020 року. Через 4 міс терапії стан пацієнта значуще покращав. А саме: усі скарги зникли; зменшилися розміри печінки і селезінки; нормалізувалися показники крові; ознак ураження кістково-суглобової системи не виявлено.

Таліглуцераза альфа, яку використовували для лікування в обох клінічних випадках, – це перший схвалений FDA (Управління із санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів США) рекомбінантний білок, експресований у рослинних клітинах, рекомендований для лікування пацієнтів із підтвердженим діагнозом ХГ I типу. Таліглуцераза альфа схвалена у більш як 10 країнах світу і дозволена для використання в дітей віком від 4 років. Препарат виробляється в одноразових біореакторах, він захищений природним бар'єром від вірусного забруднення і не містить компонентів ссавців (Fox J.L. et al., 2012; Shaaltiel Y. et al., 2007).

Безпека й ефективність таліглуцерази альфа в дозах 30 Од/кг і 60 Од/кг були продемонстровані в базовому 9-місячному подвійному сліпому рандомізованому дослідженні в паралельних групах III фази (PB-06-001) у дорослих раніше нелікованих пацієнтів із ХГ

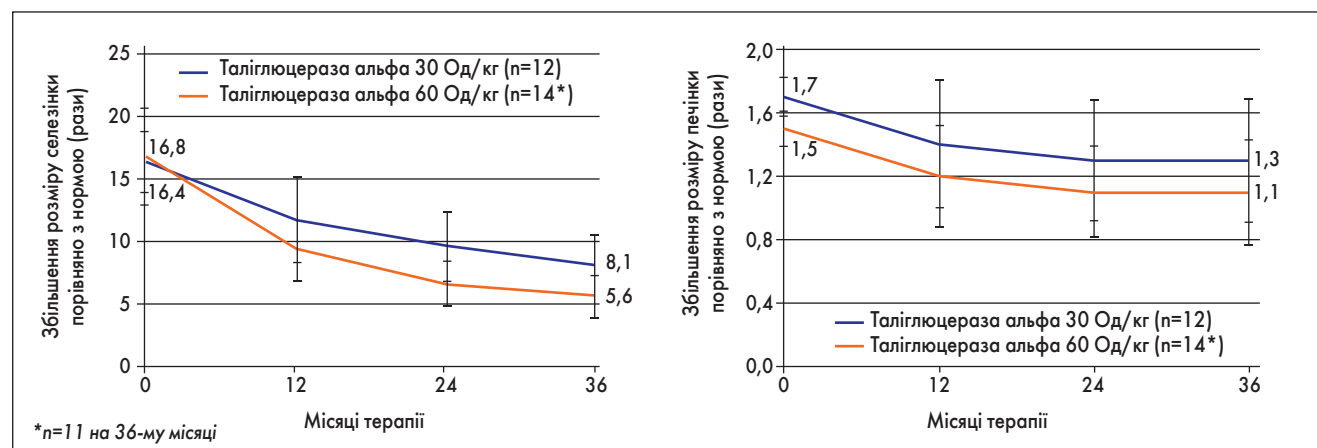


Рис. 1. Зменшення розмірів селезінки й печінки на тлі 36-місячної ФЗТ таліглуцеразою альфа (PB-06-001; PB-06-003)

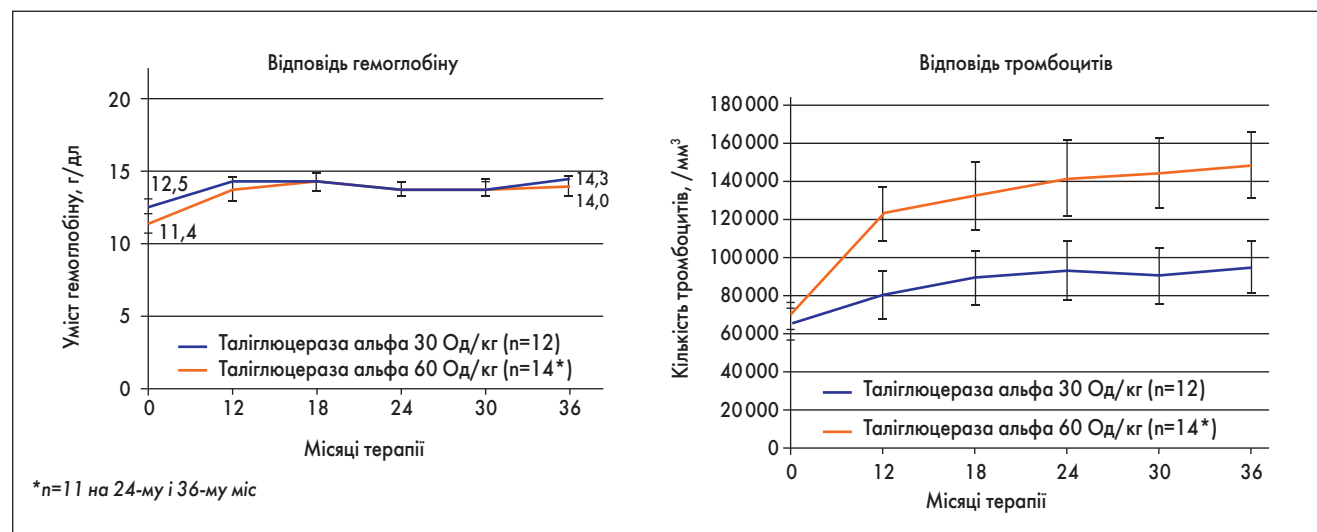


Рис. 2. Нормалізація гематологічних показників на тлі 36-місячної ФЗТ таліглуцеразою альфа (PB-06-001; PB-06-003)

Продовження на стор. 28.

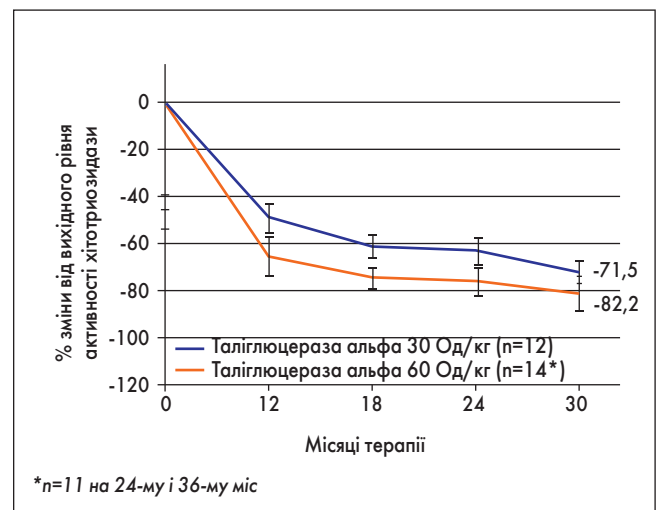


Рис. 3. Активність хітотріозидази на тлі 36-місячної ФЗТ таліглуцеразою альфа (PB-06-001; PB-06-003)

Складна міждисциплінарна патологія: епідеміологія, діагностика і сучасні підходи до терапії хвороби Гоше в Україні

Продовження. Початок на стор. 26.

(Zimran A. et al., 2012). Пацієнтам, які завершили дослідження РВ-06-001, було запропоновано взяти участь у багаточасовому подвійному сліпому рандомізованому дослідженні III фази з 2 рівнями дозування: 30 або 60 Од/кг внутрішньовенно через тиждень РВ-06-003. Оцінку ефективності проводили за розмірами селезінки й печінки, кількістю тромбоцитів, концентрацією гемоглобіну та активністю хітотріозидази. Безпеку оцінювали за частотою небажаних явищ (НЯ) і титром антитіл до таліглуцерази альфа.

Результати, отримані через 36 міс терапії таліглуцеразою альфа, відображено на рисунках 1-3.

Отже, дослідження РВ-06-001 і РВ-06-003 показали, що лікування таліглуцеразою альфа впродовж 36 міс у дорослих пацієнтів із ХГ, які до цього не отримували ФЗТ, забезпечило тривале поліпшення всіх фізичальних і лабораторно-інструментальних параметрів тяжкості захворювання, зокрема:

- нормалізацію кількості тромбоцитів і гемоглобіну;
- зменшення об'ємів селезінки і печінки;
- зниження активності хітотріозидази;
- збільшення жовтого кісткового мозку, що відображає кліренс клітин Гоше.

Усі НЯ, пов'язані з лікуванням, були слабкими або помірними і швидко зникали.



Із доповіддю «Від симптому до діагнозу – діагностичний алгоритм хвороби Гоше» виступила лікар-педіатр центру орфанних захворювань НДСЛ «ОХМАТДИТ» МОЗ України Яна Ігорівна Дороніна.

Хвороба Гоше – це патологія, яка характеризується вираженою гетерогенністю клінічної картини і прогресуючим перебігом (Mistry P.K. et al., 2012; Brady R.O.

et al., 1997). Поряд із гепато- і спленомегалією і гематологічними змінами у вигляді цитопенії різного ступеня вираженості ХГ в дітей часто маніфестує кістковими проявами. Саме на цьому аспекті зупинимось детальніше.

Ураження кістково-суглобової системи, які є основним фактором інвалідації хворих, спостерігають у більш як 90% пацієнтів із ХГ (Kaplan P. et al., 2013). Найчастіше ураження зазнають трубчасті кістки. В основі патогенезу лежить інфільтрація кісткового мозку клітинами Гоше, яка спричиняє деформацію кісток у вигляді колб Ерленмеєра через порушення процесів ремоделювання кістки.

Скелетні ураження при ХГ найчастіше проявляються больовим синдромом. Біль неспецифічний, ниючий, може бути гострим або хронічним, епізодичним чи постійним. Патогномонічними при ХГ є кісткові кризи, які можуть імітувати гострий остеомієліт і супроводжуються сильним болем, який часто потребує прийому наркотичних анагетиків; лихоманкою, лейкоцитозом.

При природному перебігу ХГ без застосування ФЗТ згодом розвиваються скелетні ускладнення, які прогресують і значно знижують якість життя пацієнтів (Marcucci G. et al., 2014):

- хронічна ішемія кістки з кістковими інфарктами;
- остеонекроз (локалізована загибель кістки), який найчастіше вражає головку і шийку стегна, проксимальні відділи плечової і великогомілкової кістки і хребці, що супроводжується сильним болем і призводить до інвалідації;
- літичні ураження – невеликі ерозії внаслідок локалізованого руйнування кістки;
- остеосклероз – аномальне затвердіння або збільшення щільності кістки через гіперактивне запалення;

- колапс тіла хребця з відростанням периферичних клітин, «провисанням», формуванням Н-подібної форми. Призводить до візуального дефекту і/або перелому хребця;

- руйнування кісток або суглобів, які можуть проявлятися у вигляді інтенсивного, часто хронічного, болю, інвалідації і/або деформації кісток; може охоплювати патологічні переломи, колапс.

Єдиним способом уникнення всіх названих ускладнень і ранньої інвалідації є вчасне встановлення діагнозу і призначення ФЗТ.

Методи клінічного і лабораторного обстеження за підозри/наявності ХГ:

1. ЗАК для виявлення цитопенії.
2. БАК, де найчастіші зміни представлені підвищенням рівня феритину, рідко АЛТ, АСТ і білірубину.
3. Коагулограма, в якій може спостерігатися збільшення протромбінового часу.
4. УЗД і МРТ печінки і селезінки, які дають можливість виявити вогнищеві ураження і визначити початковий об'єм органів, що необхідно для подальшого контролю ефективності ФЗТ.
5. Денситометрія і МРТ – найбільш чутливі методи, на відміну від рентгенографії допомагають виявити ураження кісток (остеопенію, інфільтрацію кісткового мозку) на ранніх стадіях.
6. Дослідження функції нервової системи, зокрема дослідження руху очей, додаткові нейроофтальмологічні тести, аналіз периферійного слуху, томографія мозку, електроенцефалографія і нейропсихометрія.
7. Допплер-ехокардіографія в пацієнтів після спленектомії.
8. Морфологічне дослідження кісткового мозку на сьогодні не є обов'язковим для діагностики ХГ, ураховуючи інвазивність методу і високу частоту хибно-негативних результатів, однак він допомагає віддиференціювати ХГ від інших лімфопроліферативних захворювань.
9. Специфічна діагностика ХГ, яка полягає у визначенні активності бета-глюкозидази (зниження до 5% вказує на ХГ) і мутації в гені GBA.

Для скринінгу ХГ може використовуватися метод «сухої плями крові», яку оцінюють у лабораторії ARCHIMED (Австрія) або SENTOGENE (Німеччина). Водночас варто зауважити, що результат зазначеного аналізу не може бути підставою для встановлення діагнозу і має бути підтверджений у лабораторії центру орфанних захворювань НДСЛ «ОХМАТДИТ» вимірюванням активності бета-глюкозидази в лейкоцитах цільної крові.

На жаль, рідкісність патології, пізня маніфестація, різноманітність і неспецифічність проявів, а також недостатня обізнаність щодо цієї хвороби серед лікарів різного профілю часто призводять до пізньої діагностики ХГ (Mehta A. et al., 2015). Згідно з власними спостереженнями центру орфанних захворювань НДСЛ «ОХМАТДИТ», діапазон появи початкових проявів захворювання коливається від 1 до 45 років, із середнім віком маніфестації 8 років. Затримка встановлення діагнозу становить 3 роки в дітей і до 8 років у дорослих. Більш як у 35% хворих діагноз встановлюють неввірно.

Наслідки невчасної діагностики ХГ і призначення ФЗТ:

- неухильне прогресування захворювання;
- підвищений ризик виникнення аваскулярного некрозу;
- неконтрольована кровотеча, особливо після хірургічних втручань;
- легенева гіпертензія;
- затримка росту;

- фатальна септицемія, передусім у пацієнтів після спленектомії;

- патологічні переломи / кісткові інфаркти;
- непотрібні/невідповідні обстеження;
- неадекватна, а іноді й небезпечна терапія.

З іншого боку, вчасно розпочата ФЗТ дає можливість мінімізувати прояви захворювання і забезпечити високу якість життя пацієнтам із ХГ. В Україні призначення ФЗТ здійснюють комісійно, відповідно до наказу МОЗ України від 12.05.2015 № 50 «Про затвердження Положення про комісію для визначення необхідності в призначенні, відміні, перерозподілі лікарських засобів та відповідних харчових продуктів для спеціального дієтичного споживання, що закуповуються за рахунок коштів державного бюджету, а також інших джерел, не заборонених законодавством, у тому числі гуманітарної допомоги, громадянам, які страждають на рідкісні (орфанні) захворювання».

Важливо пам'ятати, що в разі переривання лікування або неоптимального режиму терапії можливе прогресування хвороби кісток або їх незворотне пошкодження. Саме тому внутрішньовенні інфузії засобів ФЗТ виконують регулярно, а дозу підбирають індивідуально, відповідно до клінічного стану пацієнта. Для контролю адекватності терапії на постійній основі (кожні 6-12 міс) фахівці різних спеціальностей проводять комплексний моніторинг усіх параметрів захворювання.

У педіатрів і дитячих гематологів має бути особлива насторога щодо ХГ, адже часто захворювання маніфестує саме в дитячому віці. Необхідно розуміти ускладнення, з якими пов'язане відстрочення ФЗТ, і вчасно направляти пацієнтів на специфічну діагностику і подальше лікування.



Детальніше про особливості лабораторної діагностики ХГ в Україні розповіла біолог вищої категорії лабораторії медичної генетики центру орфанних захворювань НДСЛ «ОХМАТДИТ» Світлана Володимирівна Кормоз.

Алгоритм діагностики ХГ складається з трьох послідовних кроків.

1. Визначення активності глюкоцереброзидази.

Для цього використовують два основні біохімічні методи:

- флюорометричне визначення активності бета-глюкоцереброзидази в сухій плямі крові (DBS) і цільній крові з ЕДТА (лейкоцити);
- тандемна мас-спектрометрія LC-MS/MS, матеріалом для якої є суха пляма крові.

2. Виявлення вторинних біохімічних маркерів, які свідчать про накопичення субстрату в клітинах.

Для цього використовують:

- флюорометричне визначення активності хітотріозидази в плазмі крові (Wallac 1402 Victor Multi Label Counter);
- тандемну мас-спектрометрію LC-MS/MS для визначення рівня глюкосилцераміду (Lyso-Gb1) в сухій плямі крові.

3. Виявлення мутацій у гені GBA.

За даними HGMD® (База даних мутацій у генах людини – Human Gene Mutation Database) 2020, описано понад 540 мутацій у гені GBA, які пов'язують із ХГ (Hruska K.S. et al., 2008). З 2017 року в «ОХМАТДИТ» стартував проект із визначення генетичної природи ХГ в пацієнтів, діагноз яким було встановлено з 2001 року за результатами комплексу клінічних, морфологічних і біохімічних даних.

Молекулярно-генетичні методи діагностики охоплюють:

- метод «гніздової» полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) для отримання фрагментів послідовності функціонального гена GBA (AB SimpliAmp™ Thermal Cycler);
- поліморфізм довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ) – аналіз для визначення мажорних міссенс-замін у гені GBA (XhoI і MspI відповідно) (Shimadzu MultiNA microchip electrophoresis system);

Таблиця 3. Вимоги до біологічного матеріалу для біохімічної діагностики ХГ

Біологічний матеріал	Вимоги
Кров з ЕДТА	<ul style="list-style-type: none"> Забір крові здійснюють у лабораторії центру орфанних захворювань НДСЛ «ОХМАТДИТ» двічі на тиждень за попереднім записом (044-236-01-19). Якщо пацієнт нетранспортабельний, кров набирають самостійно. При цьому кров набирають у дитини, матері, батька та одного некрівного родича. Методика забору: у пробірку з ЕДТА набирають 8 мл крові, яку впродовж 12 год доставляють у лабораторію за температури +4 °С. Необхідно розрахувати час таким чином, щоб пробірка потрапила в лабораторію до півдня. Пробірку з кров'ю не заморозувати!
Суша пляма крові	<ul style="list-style-type: none"> Використовують стандартизований фільтрувальний папір. Сушку проводять за температури довкілля впродовж не менше 4 год, можна залишити на ніч. Плями висушують у горизонтальному положенні. Плями крові різних пацієнтів не мають стикатися. Ретельно перевіряють заповнення інформаційного листа бланка. Якщо в пацієнта виявлено аномальні показники гематокриту або лейкоцитів, треба обов'язково зазначити це в інформаційному листі бланка. Висушені плями поміщають в одноразовий індивідуальний зіп-пакет і зберігають до транспортування в холодильнику за температури +4 °С. Транспортувати плями потрібно якомога швидше, не допускаючи перегріву (влітку)

• пряме поекзонне сиквенування за Сенгером для ідентифікації рідкісних перебудов (ABI Prism 3130).

Потрібно акцентувати увагу на вимогах щодо забору, зберігання і транспортування біологічного матеріалу, який використовують для діагностики ХГ (табл. 3).

Під час забору сухих плям крові необхідно дотримуватися певних правил:

- У немовлят до 12 міс кров беруть із п'ятки, після 12 міс – із пальця.
- Місце майбутнього проколу треба зігріти, промасажувати, протерти антисептиком, після чого висушити сухою стерильною серветкою.
- Після проколу не треба видаляти першу краплю.
- Заборонено здавлювати п'ятку/палець для пришвидшення току крові.
- Кожне коло бланку треба просочувати одночасно, однією краплею крові, наскрозь.
- Не можна торкатися бланком шкіри.
- Категорично заборонено торкатися або здавлювати пляму крові.

Найпоширенішими помилками під час забору сухих плям є недостатня кількість зразка для дослідження, здавлювання зразка, погане висушування, розведення або забруднення зразка і повторне нашарування крові. Зразки, перенасичені кров'ю, і забір не капілярної, а венозної крові (наявність сивороткових кілець) також не можна використовувати для дослідження.

Варто зауважити, що на активність ферментів у сухих плямах крові значуще впливають фактори довкілля, зокрема термін і температура зберігання, умови доставки (температура і вологість), спосіб і умови висушування і кількість лейкоцитів і гематокрит.

Таким чином, визначення активності ферментів у сухій плазмі крові – це простий малоінвазивний спосіб біохімічної діагностики ХГ, який потребує малого об'єму крові і характеризується мінімальним ризиком псування внаслідок гемолізу або бактеріальної контамінації, а також великим терміном придатності. Недоліками методу є його залежність від правильності забору, умов доставки і зберігання. Крім того, метод характеризується порівняно високою частотою хибнопозитивних результатів при ферментодіагностиці лізосомальних хвороб накопичення.

Власні дані лабораторії центру орфанних захворювань НДСЛ «ОХМАТДИТ» виявили хибнопозитивні результати DBS-скринінгу в 9,3% (15/160) пацієнтів при діагностиці ХГ, 1,6% (8/502) – при хворобі Помпе, 1% – при хворобі Фабрі (2/200) і 1,4% (2/146) – при мукopolісахаридозі I типу.

Отже, ферментативний аналіз на DBS – це скринінгове дослідження, яке потребує обов'язкового

підтвердження на цільній крові в лабораторії центру орфанних захворювань НДСЛ «ОХМАТДИТ».



Наприкінці сателітного симпозиуму лікар-гематолог вищої категорії, завідувач консультативної поліклініки, ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України» Ірина Михайлівна Юрчишак на прикладі клінічного випадку продемонструвала, яким непростим може бути діагностичний шлях пацієнтів із ХГ.

Клінічний випадок 3

Пацієнтка, 29 років. 05.07.2017 року вперше звернулася на консультацію до лікаря-гематолога консультативної поліклініки з приводу спленомегалії (+8 см) і змін у ЗАК (анемія: гемоглобін 75 г/л, тромбоцитопенія 80 тис/мм³). 29.11.2017 року хворій встановили діагноз – ідіопатичний мієлофіброз (ІМФ). Жінку було взято на диспансерний облік у консультативну поліклініку ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України».

Із 28.12.17 по 05.01.18 рік хвора вперше лікувалася стаціонарно в гематологічному відділенні 5-ї МКЛ з діагнозом: ІМФ, розгорнута стадія. Спленомегалія.

При поступленні в стаціонар пацієнтка скаржилася на загальну слабкість, запаморочення, утомлюваність, важкість у лівому підбер'ї. Погіршення самопочуття зазначає з 2017 року. На основі трепан-біопсії кісткового мозку діагностований мієлофіброз. При огляді на момент звернення – селезінка +8 см, чутлива при пальпації. ЗАК при госпіталізації: гемоглобін – 75 г/л, лейкоцити – 2,1×10⁹/л, тромбоцити – 80 тис/мм³. Після лікування (гідроксисечовина, алопуринол, гемотрансфузії, глюкокортикостероїди (ГКС), гепатопротектори) стан хворої покращився. ЗАК при виписці: гемоглобін – 137 г/л, еритроцити – 4,9×10¹²/л, лейкоцити – 5,7×10⁹/л, тромбоцити – 317 тис/мм³. Рекомендований повторний огляд гематолога через 2 тижні.

Наступна зустріч із пацієнткою відбулася майже через рік. Через погіршення стану вона знову була госпіталізована і отримувала аналогічне лікування із 07.12.18 по 12.12.18 рік. Виписана з покращенням, після чого на контроль до гематолога не з'являлася.

У лютому 2020 року стан хворої знову погіршився, однак, у зв'язку з епідемією COVID-19, жінка змогла приїхати на прийом лише 31.07.2020 року. Скарги на момент звернення: швидка втомлюваність, постійна загальна слабкість, дискомфорт і відчуття тиску в лівій половині живота, періодична поява синців на тулубі, худорлявість, болі в кістках після бігу (до 5 км).

УЗД ОЧП за 11.06.2020 рік: гепатолієнальний синдром (розміри селезінки 233×89 мм), сонографічні ознаки портальної гіпертензії.

Ураховуючи бажання материнства, вік пацієнтки, результати ЗАК, БАК і гігантську селезінку, було запропоновано провести подальше дообстеження, а саме:

- трепан-біопсію клубової кістки (для встановлення ступеня фіброзу);
- визначення рівнів еритропоєтину, феритину, сироваткового заліза;

- ПЛР до вірусів гепатиту В і С (кров, якісно).

Під час детального збору анамнезу виявилось, що в дитинстві в пацієнтки були часті скарги на втомлюваність, болі в кістках, часті носові кровотечі, синячковість, які батьки пояснювали швидким ростом і надмірною активністю дитини.

Трепанобіоптат. Трепанобіоптат клітинний. Гранулоцитарний паросток представлений усіма перехідними формами, омолоджений до мієлоцитів. Нормобластичний тип еритропоезу, представлений нормоцитами. Мегакаріоцити поодинокі, діяльні.

Рівень заліза сироватки в нормі, тоді як показники феритину та еритропоєтину – виражено підвищені (217 нг/мл і 85,5 мОд/мл відповідно). Вірусні гепатити не виявлено.

Таким чином, даних, які б свідчили про наявність мієлофіброзу, виявлено не було. Було висловлено підозру на ХГ і зроблено повторний перегляд трепанобіоптату за 2017 рік, з акцентом на пошук специфічних клітин Гоше. Паралельно була забрана кров методом DBS і направлена на безкоштовну діагностику в Німеччину.

Детальний перегляд трепанобіоптату виявив таке: у досліджуваному матеріалі, серед збереженого кісткового мозку, в якому визначаються клітини еритроїдного, гранулоцитарного і мегакаріоцитарного паростків кровотворення, візуалізуються масивні ділянки проліферативної патологічної гістоцити з світлою еозинофільною плазмою з вираженою шаруватістю (феномен «м'ятого папірусного паперу») і невеликими округлими базофільними ядрами. Морфологія процесу найбільше відповідає ХГ (глюкозилцерамідному ліпідозу).

Після цього була проведена специфічна діагностика ХГ, яка виявила:

- активність бета-глюкозидази 0,7 нмоль/год/мл (норма 5,1-9,5 нмоль/год/мл);
- активність хітотріазидази – 9017 нмоль/год/мл (норма 0-159 нмоль/год/мл);
- молекулярно-генетичне дослідження гена GBA виявило мутацію р.(Asn409Ser) в гомозиготному стані.

Відповідно до отриманих результатів обстежень у листопаді 2020 року діагноз «ідіопатичний мієлофіброз» було змінено на «хворобу Гоше». Після цього пацієнтку було включено на заявку МОЗ для забезпечення ФЗТ. До поставки препарату за кошти держбюджету хвора отримувала терапію велаглюцеразою альфа, яка була надана гуманітарною програмою.

Крім того, пацієнтці рекомендований контроль аналізів:

- рівня хітотріазидази – 1 р./рік;
- ЗАК, БАК, електролітів крові – 1 р./6 міс;
- УЗД ОЧП 1 р./6-12 міс, у разі зміни структури – КТ/МРТ;
- МРТ кісток тулуба і кінцівок;
- денситометрія – 1 р./рік.

Прогноз хвороби для пацієнтки сприятливий. Можна очікувати нормалізації показників периферичної крові та до 1-2 років – розмірів селезінки. Крім того, ХГ не є протипоказанням для настання вагітності. Але планувати її доцільно після досягнення цілей лікування ХГ. Питання про продовження ФЗТ під час вагітності і годування груддю вирішується в індивідуальному порядку з урахуванням стану пацієнтки і її прихильності до лікування. Спосіб родорозршення визначають за акушерськими показаннями з урахуванням наявності цитопенії і стану системи гемостазу (Paterman A.H. et al., 2007).

Активний обмін думками в рамках сателітного симпозиуму продемонстрував високий освітній і професійний рівень представлених доповідей. Спікери доступно і достатньо ґрунтовно окреслили головні практичні аспекти ведення хворих із підозрою на ХГ і зробили це орфанне захворювання зрозумілішим як для гематологів, так і для педіатрів і лікарів загальної практики – сімейної медицини, які найчастіше першими стикаються з пацієнтами, в яких наявні певні симптоми цієї рідкісної патології.

Підготувала **Ганна Кирпач**

МИ ПОРУЧ З ВАМИ

ЕЛЕЛІСО (таліглюцераза альфа) – перша схвалена у США ферментозамісна терапія на основі рослинних клітин, яка доступна зараз Вам і Вашим пацієнтам^{1,2,3}

Ферментозамісна терапія на основі рослинних клітин

ЕЛЕЛІСО (таліглюцераза альфа) – продемонстрував

- ▶ значне зменшення об'єму селезінки^{4,5}
- ▶ значне зменшення об'єму печінки^{4,5}
- ▶ значне покращення гематологічних показників^{4,5}
- ▶ значне збільшення жирової фракції в поперековій частині хребта, що свідчить про елімінацію клітин Гоше з кісткового мозку⁶

МІШЕЛЬ,
пацієнтка з хворобою Гоше 1 типу,
яка приймає ЕЛЕЛІСО



МАРТІН,
пацієнт з хворобою Гоше 1 типу,
який приймає ЕЛЕЛІСО

- ▶ у пацієнтів, які перейшли з іміглюцерази на ЕЛЕЛІСО, залишалися стабільними об'єми селезінки і печінки та гематологічні показники хвороби Гоше 1 типу протягом 9 місяців^{4,7}

ПОКАЗАННЯ
ЕЛЕЛІСО рекомендований для лікування пацієнтів з підтвердженим діагнозом хвороби Гоше 1-го типу.⁴



Література: 1. FDA Approval letter, NDA 022458. Reference ID: 3124792. Доступно по ссылке https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/applletter/2012/022458s000ltr.pdf 2. Full Prescribing information, утверждена 01.05.2012. Reference ID: 3124792. Доступно по ссылке https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/applletter/2012/022458s000ltr.pdf 3. Full Prescribing information, утверждена 01.05.2016. Reference ID: 4031397. Доступно по ссылке https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/applletter/2012/022458s000ltr.pdf 4. Інструкція із застосування препарату Еленісо. РП № UA/14379/01/01 Наказ МОЗ України №1401 від 27.07.2018. S. A, Zimran A, Brill-Almon E, Chertkoff R, et al. Pivotal trial with plant-cell-expressed recombinant glucocerebrosidase, taliglucerase alfa, a novel enzyme replacement therapy for Gaucher disease. Blood. Prepublished online September 6, 2011; doi:10.1182/blood-2011-07-366955. 6. Lvan Dussen, A, Zimran, E.M, Akkema, J.M.F.G, Aerts, M, Petakov, D, Elstein, H, Rosenbaum, D, Aviezer, E, Brill-Almon, R, Chertkoff, M, Maas, C.E.M, Hollak Taliglucerase alfa leads to favorable bone marrow responses in patients with type I Gaucher disease. Blood Cells, Molecules and Diseases 50 (2013) 206–211 7. Gregory M, Pastores al, A Phase 3, multicenter, open-label, switchover trial to assess the safety and efficacy of taliglucerase alfa, a plant cell-expressed recombinant human glucocerebrosidase, in adult and pediatric patients with Gaucher disease previously treated with imiglucerase. Blood Cells, Molecules and Diseases 53 (2014) 253–260

ЕЛЕЛІСО (таліглюцераза альфа) – порошок ліофілізований для розчину для інфузій, по 200 ОД препарату у флаконі у картонній коробці.

КОРОТКА ІНСТРУКЦІЯ ДЛЯ МЕДИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТУ.

Показання. Еленісо рекомендований для лікування пацієнтів з підтвердженим діагнозом хвороби Гоше 1-го типу.

Протипоказання. Тяжкі алергічні реакції на таліглюцеразу альфа або інші компоненти препарату в анамнезі.

Взаємодія з іншими лікарськими засобами та інші види взаємодій. Не встановлено.

Особливості застосування. Через можливий розвиток анафілаксії слід бути готовим надати належну медичну допомогу, коли застосовується Еленісо. Клінічні дослідження Еленісо не включали достатньої кількості пацієнтів віком від 65, щоб визначити, чи відрізняється їхня відповідь на лікування від відповіді пацієнтів молодшого віку. Еленісо слід застосовувати під час вагітності лише у випадку очевидної необхідності. Жінки з хворобою Гоше 1-го типу мають підвищений ризик викидня, якщо не лікувати та не контролювати симптоми хвороби до зачаття та під час вагітності. Вагітність може загострювати наявні симптоми хвороби Гоше 1-го типу або спричинити її нові прояви. Прояви хвороби Гоше 1-го типу можуть призвести до несприятливих наслідків вагітності, у тому числі гепатоспленомегалії, яка може перешкодити нормальному росту плода, і тромбоцитопенії, яка може спричинити виникнення кровотечі і крововиливу. Невідомо, чи проникає препарат Еленісо у грудне молоко людини. Оскільки багато лікарських засобів проникають у грудне молоко людини, препарат слід з обережністю застосовувати жінкам, які годують груддю. Оскільки під час клінічних досліджень з таліглюцеразою альфа повідомлялося про запаморочення, пацієнтам слід знати про реакцію їхнього організму на препарат Еленісо перед тим, як керувати автотранспортом або іншими механізмами.

Спосіб застосування та дози. Рекомендована доза для лікування дорослих, які раніше не отримували терапію, і дітей становить 60 одиниць/кг маси тіла кожні 2 тижні у вигляді 60-120-хвилинної внутрішньовенної інфузії.

Пацієнтам, які раніше отримували лікування іміглюцеразою в стабільному дозуванні, при переході з іміглюцерази на препарат Еленісо рекомендується починати лікування препаратом Еленісо у такій самій дозі. Інструкції щодо приготування та застосування дивіться повну інструкцію для застосування Еленісо.

Побічні реакції. У клінічних дослідженнях застосування препарату Еленісо (у вигляді початкової терапії та після переходу з лікування іміглюцеразою) найчастішими (≥5%) побічними реакціями були свербіж, гарячі приливи, головний біль, біль у суглобах, біль у животі, блювання, підвищена втомлюваність, біль у спині, запаморочення, нудота та висип. Більш детально інформацію дивіться повну інструкцію для застосування Еленісо.

Фармакологічні властивості. Еленісо – це рекомбінантний аналог лізосомальної глюкоцереброзидази людини, який каталізує гідроліз глюкоцереброзиду з утворенням глюкози і цераміду, знижуючи кількість накопиченого глюкоцереброзиду. Поглинання препарату у клітинні лізосоми опосередковується за'язуванням ланцюгів олігосахаридів манози Еленісо зі специфічними рецепторами манози на поверхні клітини, що призводить до інтерналізації та подальшого транспортування до лізосоми.

Категорія відпуску. За рецептом.

Перед використанням препарату необхідно ознайомитися з повною інструкцією для застосування. Інформація для лікарів та фармацевтів. Призначено для розповсюдження на семінарах, конференціях, симпозиумах з медичної тематики.

Рестраційне посвідчення № UA/14379/01/01, затверджено наказом Міністерства охорони здоров'я України 17.01.2020 № 91

ЗМІНИ ВНЕСНО Наказ Міністерства охорони здоров'я України 17.09.2020 № 2119

