

## РЕДКИЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ И СИНДРОМЫ

## RARE HEMATOLOGICAL TUMORS AND SYNDROMES

### Пароксизмальная ночная гемоглинурия и первичный миелофиброз — крайне редкое сочетание клональных заболеваний системы крови: обзор литературы и описание двух собственных клинических наблюдений из практики

### Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria and Primary Myelofibrosis as an Extremely Rare Combination of Clonal Hematological Diseases: A Literature Review and Two Clinical Case Reports

О.Ю. Виноградова<sup>1,2,3</sup>, А.Л. Неверова<sup>1</sup>,  
М.М. Панкрашкина<sup>1</sup>, Е.Г. Аршанская<sup>1,4</sup>,  
Д.И. Шихбабаева<sup>1</sup>, В.П. Косенкова<sup>1</sup>, В.В. Птушкин<sup>1,2,3,4</sup>

OYu Vinogradova<sup>1,2,3</sup>, AL Neverova<sup>1</sup>,  
MM Pankrashkina<sup>1</sup>, EG Arshanskaya<sup>1,4</sup>,  
DI Shikhbabaeva<sup>1</sup>, VP Kosenkova<sup>1</sup>, VV Ptushkin<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup> Московский городской гематологический центр, ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина ДЗМ», 2-й Боткинский пр-д, д. 5, корп. 17, Москва, Российская Федерация, 125284

<sup>1</sup> Moscow Municipal Center for Hematology, SP Botkin City Clinical Hospital, 5 corp. 17 2-i Botkinskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125284

<sup>2</sup> ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, ул. Саморы Машела, д. 1, Москва, Российская Федерация, 117997

<sup>2</sup> Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, 1 Samory Mashela ul., Moscow, Russian Federation, 117997

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, ул. Островитянова, д. 1, Москва, Российская Федерация, 117997

<sup>3</sup> NI Pirogov Russian National Research Medical University, 1 Ostrovityanova ul., Moscow, Russian Federation, 117997

<sup>4</sup> ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, ул. Баррикадная, д. 2/1, Москва, Российская Федерация, 125993

<sup>4</sup> Russian Medical Academy of Postgraduate Education, 2/1 Barrikadnaya ul., Moscow, Russian Federation, 125993

#### РЕФЕРАТ

Сочетания пароксизмальной ночной гемоглинурии (ПНГ) и хронических миелопролиферативных новообразований (ХМПН) крайне редки. Все они относятся к клональным заболеваниям системы крови и характеризуются повышенным риском развития тромбозов, что служит одной из наиболее частых причин летальных исходов. В настоящей работе отражены данные литературы с описанием 38 клинических наблюдений сочетания ПНГ с Rh-негативными и Rh-позитивными ХМПН в основном в формате «case report» из 22 источников, опубликованных с 1970 по 2022 г. Кроме того, представлены 2 собственных клинических наблюдения сочетания ПНГ с первичным миелофиброзом (ПМФ/ПНГ) из архива Московского городского гематологического центра ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ».

**Ключевые слова:** пароксизмальная ночная гемоглинурия, иммунофенотипирование, проточная цитометрия, ПНГ-клон, мутации в гене *PIGA*, хронические миелопролиферативные новообразования, миелофиброз, истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, мутация V617F в гене *JAK2*, мутации в генах *CALR* и *MPL*, клиническая практика.

#### ABSTRACT

The combinations of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and chronic myeloproliferative neoplasms (CMPNs) are extremely rare. All of them refer to clonal hematological diseases and are characterized by high thrombosis risk, which most commonly causes death. This paper provides literature data on 38 combined cases of PNH and Ph-negative/Ph-positive CMPNs mainly in the “case report” format, taken from 22 sources published in 1970–2022. Additionally, the paper reports personal experience with 2 combined cases of PNH and primary myelofibrosis (PMF/PNG) from the archive of the Moscow Municipal Center for Hematology (SP Botkin City Clinical Hospital).

**Keywords:** paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, immunophenotyping, flow cytometry, PNH-clone, *PIGA* mutation, chronic myeloproliferative neoplasms, myelofibrosis, polycythemia vera, essential thrombocytopenia, *JAK2*<sup>V617F</sup> mutation, mutations in *CALR* and *MPL* genes, clinical practice.

Получено: 8 декабря 2023 г.

Принято в печать: 12 марта 2024 г.

Для переписки: Анна Леонидовна Неверова, канд. биол. наук, 2-й Боткинский пр-д, д. 5, корп. 17, Москва, Российская Федерация, 125284; e-mail: anyuta6549@yandex.ru

Для цитирования: Виноградова О.Ю., Неверова А.Л., Панкрашкина М.М. и др. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия и первичный миелофиброз — крайне редкое сочетание клональных заболеваний системы крови: обзор литературы и описание двух собственных клинических наблюдений из практики. Клиническая онкогематология. 2024;17(2):195–203.

DOI: 10.21320/2500-2139-2024-17-2-195-203

Received: December 8, 2023

Accepted: March 12, 2024

For correspondence: Anna Leonidovna Neverova, PhD in Biology, 5 korp. 17 2-i Botkinskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125284; e-mail: anyuta6549@yandex.ru

For citation: Vinogradova OYu, Neverova AL, Pankrashkina MM, et al. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria and Primary Myelofibrosis as an Extremely Rare Combination of Clonal Hematological Diseases: A Literature Review and Two Clinical Case Reports.

DOI: 10.21320/2500-2139-2024-17-2-195-203

## ВВЕДЕНИЕ

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) — приобретенное клональное нарушение кроветворения, вызванное соматической мутацией в гене *PIGA*. Оно приводит к отсутствию или сниженной экспрессии гликозилфосфатидилинозитола (GPI) и исчезновению GPI-заякоренных белков на поверхности клеток крови. Такие особенности делают эритроциты более подверженными воздействию компонентов системы комплемента, что вызывает Кумбс-отрицательный внутрисосудистый гемолиз, который является отличительной чертой ПНГ. Кроме того, свободный гемоглобин, активация ПНГ тромбоцитов с помощью системы комплемента и иные (менее изученные) механизмы связаны с другой характерной чертой ПНГ — тромбофилией и повышенным риском тромботических осложнений, которые служат наиболее частой причиной летального исхода при этом редком заболевании [1–4].

Показано, что у 40–50 % пациентов с апластической анемией (АА) также выявляются клоны клеток с ПНГ-фенотипом. При этом более чем у 20 % из них размер клона ПНГ составляет 1 % и более, как правило, 10–50 % [3–8].

Кроме того, почти у 10 % пациентов с миелодиспластическим синдромом (МДС) также обнаруживаются клоны клеток с ПНГ-фенотипом. При этом размер клона, как правило, меньше и чаще составляет 0,01–10,0 % [6, 8]. По этой причине не только при диагностике АА, но и при МДС рекомендуется тестирование на наличие клона клеток ПНГ [9–11].

Чрезвычайно редко ПНГ-клон выявляют и при классических хронических миелопролиферативных новообразованиях (ХМПН). Эти заболевания представляют собой группу, характеризующуюся клональными нарушениями кроветворения, которые возникают на уровне стволовой кроветворной клетки с пролиферацией одной или более клеточных линий миелопоэза в костном мозге, признаками сохранной дифференцировки, сопровождающимися изменением показателей периферической крови [12]. К классическим ХМПН относятся хронический миелолейкоз (ХМЛ) и Rh-негативная истинная полицитемия (ИП), эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) и миелофиброз

(МФ). Последний может быть как первичным (ПМФ), так и вторичным, возникающим в результате прогрессирования ИП (постполицитемический МФ) и ЭТ (посттромбоцитемический МФ) [13]. Все они также связаны с повышенным риском развития тромбозов, которые и при этих заболеваниях служат одной из наиболее частых причин летального исхода [12].

Данные литературы о крайне редких вариантах сочетания ПНГ и ХМПН отражены в табл. 1.

Как видно из данных табл. 1, в период с 1970 по 2022 г., т. е. за 52 года, в доступной нам литературе с использованием международных поисковых систем удалось обнаружить только 22 публикации с описанием ПНГ, связанной с ХМПН, у 38 пациентов.

Наиболее ранняя публикация о сочетании ПНГ и ХМПН, найденная в литературе, относится к 1970 г., когда еще не проводились не только молекулярно-генетические исследования, но и иммунофенотипирование для определения клона ПНГ. Германские авторы обследовали 10 пациентов с ХМПН, протекающими с анемией. У 2 больных с МФ выявили полный набор характеристик, связанных с ПНГ [14].

Далее последовала целая серия работ [15–21], в которых сообщалось о 10 клинических наблюдениях сочетания ПНГ и ХМПН.

На рубеже тысячелетий начато применение иммунофенотипирования, а в 2010 г. впервые в международных клинических рекомендациях обозначена необходимость исследования методом проточной цитометрии клона клеток с ПНГ-фенотипом и определения его размера для верификации диагноза [11].

В 2012 г. представлено 3 клинических наблюдения JAK2-позитивных ХМПН, при которых иммунофенотипически определен ПНГ-клон. В 2 случаях это были пациенты с неклассифицированным МПН (myeloproliferative neoplasm, unclassifiable — MPN-U), в 1 — с ПМФ. Авторы отметили, что у всех 3 пациентов мутация в гене *JAK2* выявлялась только в гранулоцитах с ПНГ-фенотипом [22].

В 2015 г. Y. Chen и соавт. описали случай, когда у пациента с ПНГ на фоне полной ремиссии через 11 лет после первичной диагностики болезни был выявлен Rh-позитивный ХМЛ [23].

В 2015 г. в российском журнале «Практическая медицина» представлен анализ истории болезни пациентки 60 лет с жалобами на одышку при физической

Таблица 1. Крайне редкие сочетания ПНГ и ХМПН

Год	Автор	Число пациентов (пол, возраст)	Размер клона ПНГ	Вариант ХМПН	Последовательность диагностики МПН и ПНГ	Драйверные мутации в генах
1970	N.E. Hansen, S.A. Killmann [14]	2 (НД)	НО	Не уточнен	Не указана	НО
1973	H. Hirai et al. [15]	1 (НД)	НО	МФ	Не указана	НО
1979	A.W. Boyd et al. [16]	1 (М, 60)	НО	Не уточнен	Сначала ПНГ	НО
1981	A. Almquist et al. [17]	1 (НД)	НО	МФ	Одновременно	НО
1992	D.L. Graham, D.A. Gastineau [18]	4 (НД)	НО	ПМФ	Сначала ПМФ	НО
1993	J. Nakahata et al. [19]	1 (М, 58)	НО	ПМФ	Одновременно	НО
2001	J. Meletis et al. [21]	4 (НД)	НО	МПН	Не указана	НО
2005	S.P. Shaheen 2nd et al. [20]	1 (М, 53)	НО	ПМФ	Сначала ПМФ, через 2 года ПНГ	НО
2012	C. Sugimori et al. [22]	1 (М, 51)	99 % G, 13 % R	нМПН	Одновременно	JAK2
		2 (М, 65)	40 % R	нМПН	Сначала ПНГ, через 2 года нМПН	
		3 (М, 78)	73 % G, 53 % R	ПМФ	Сначала ПНГ, через 1 год ПМФ	
2015	Y. Chen et al. [23]	1 (М, 52)	12 % R, 24 % G	ХМЛ	Сначала ПНГ, через 11 лет ХМЛ	BCR::ABL
2015	A.M. Саврилова и др. [24]	1 (Ж, 60)	44,9 % R, 23,4 % G, 12,2 % M	ЭТ	Одновременно	JAK2
2016	Y.S. Fraiman et al. [25]	1 (НД)	73 % M, 60 % G, 14 % R	ЭТ	Сначала ЭТ, через 6 лет ПНГ	CALR
2016	R. Tominaga et al. [26]	1 (Ж, 27)	99,2 % G, 75,7 % R, 99,3 % M	ХМЛ	Одновременно	BCR::ABL
2017	V. Gaidano et al. [27]	1 (Ж, 72)	88,6 % G, 86,9 % M, 71 % R	Посттромбоцитомический МФ	Одновременно	JAK2
		2 (М, 75)	< 1 %	ИП	Сначала ИП, через 24 года ПНГ	JAK2
2019	J.P. Cooper et al. [35]	1 (М, 18)	НО	ПМФ	Одновременно	Не указаны
		2 (Ж, 14)	НО	ПМФ	Одновременно	Не указаны
2019	O. Gutwein et al. [33]	1 (Ж, 66)	1,1 % G	нМПН	Одновременно	JAK2
		2 (Ж, 64)	2,7 % G, 6,5 % R	ИП	Одновременно	JAK2
2020	S.J. Richards et al. [36]	1 (М, 71)	0,7 %	МФ	Сначала МФ	CALR
		2 (Ж, 65)	93,3 %	Не уточнен	Сначала МПН	JAK2
		3 (М, 55)	1,2 %	ИП	Сначала ИП	JAK2
		4 (Ж, 71)	3,4 %	Не уточнен	Сначала МПН	JAK2
		5 (М, 74)	96,3 %	Не уточнен	Сначала МПН	JAK2
2020	K. Kirito [28]	1 (М, 49)	99 %	ПМФ	Одновременно	MPL
2021	S. Chatzidavid et al. [29]	1 (М, 51)	> 90 %	Маскированная ИП	Одновременно	JAK2
2021	J.A. Giannotta et al. [31]	1 (М, 67)	95 % N, 94 % M	ЭТ	Сначала ЭТ, через 10 лет ПНГ	CALR, тип 2
2021	S. Park et al. [30]	1 (М, 87)	3,8 % R, 48,6 % N, 77,2 % M	ПМФ	Одновременно	JAK2
2022	Z. Alsaman et al. [32]	1 (М, 42)	83,3 % G, 0,03 % R	ПМФ	Одновременно	CALR

G — гранулоциты; M — моноциты; N — нейтрофилы; R — эритроциты; ИП — истинная полицитемия; МПН — миелопролиферативное новообразование; МФ — миелофиброз; НД — нет данных; нМПН — неклассифицированное МПН; НО — не определяли; ПМФ — первичный миелофиброз; ПНГ — пароксизмальная ночная гемоглобинурия; ХМЛ — хронический миелолейкоз; ХМПН — хроническое миелопролиферативное новообразование; ЭТ — эссенциальная тромбоцитемия.

нагрузке, желтую окраску склер, потемнение мочи. Обращали на себя внимание гепато- и спленомегалия, концентрация гемоглобина 75 г/л, уровень эритроцитов  $2,39 \times 10^{12}/л$ , тромбоцитоз с числом тромбоцитов  $2151 \times 10^9/л$ . Молекулярно-генетическое исследование периферической крови позволило выявить мутацию V617F в гене JAK2, а при цитогенетическом исследовании костного мозга обнаружена транслокация t(X;7) в 45 % проанализированных метафаз. По результатам гистологического исследования трепанобиоптата костного мозга имела место морфологическая картина ЭТ. Размер клона ПНГ по данным проточной цитоме-

три составлял 44,87 % среди эритроцитов. Таким образом, диагностировано два заболевания: ПНГ, классическая форма, протекающая с хроническим внутрисосудистым гемолизом, гемолитическими кризами, и ЭТ как один из вариантов ХМПН. Транслокация t(X;7) с поломкой в коротком плече хромосомы 7 расценена как фактор неблагоприятного прогноза с возможной трансформацией в острый лейкоз [24].

Y.S. Fraiman и соавт. в 2016 г. опубликовали результаты анализа 1 наблюдения с клиническими и лабораторными признаками ПНГ при ХМПН с мутацией в гене CALR [25].

Случай сочетания ПНГ и ХМЛ представлен R. Tominaga и соавт. в журнале «Leukemia» в 2016 г. [26]. У пациентки 27 лет методом проточной цитометрии был выявлен клон ПНГ, а при цитогенетическом и молекулярно-генетическом исследованиях — транслокация  $t(9;22)(q34;q11)$  и транскрипт  $BCR::ABL$ . Любопытно то, что методом проточной цитометрии размер клона ПНГ среди гранулоцитов составил 99,2 %, эритроцитов — 75,7 %, моноцитов — 99,3 %. В то же время в предпринятом авторами исследовании среди В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов и НК-клеток ПНГ-клоны не обнаружены. Пациентке по поводу ХМЛ назначен нилотиниб. Лечение привело к уменьшению не только количества  $BCR::ABL$ -позитивных гранулоцитов, но и размера клона ПНГ. Авторы предположили, что обе генетические поломки (мутация в гене *PIGA* и сливной ген  $BCR::ABL$ ) были в одном клоне клеток [26].

В публикации итальянских авторов 2017 г. также обсуждается обнаружение ПНГ-клона у 2 пациентов с ХМПН [27]. В одном случае у 72-летней женщины с лейкоцитозом, тромбоцитозом, низким уровнем гемоглобина в крови и тромбозом воротной вены при отсутствии признаков гемолиза одновременно выявлены мутация в гене *JAK2* и большой клон ПНГ. Диагностирован посттромбоцитемический МФ, протекающий с ПНГ-клоном. В другом — у 75-летнего мужчины с тромбоцитозом и длительным анамнезом тромбозов без признаков гемолиза также обнаружены мутация в гене *JAK2* и минорный клон ПНГ. Установлена ИП, протекающая с клоном ПНГ [27].

В 2020 г. опубликован единственный описанный в литературе случай сочетания ПНГ (размер клона 99 %) и ПМФ с драйверной мутацией W515L в гене *MPL* [28].

В 2021 г. в статье греческих авторов (S. Chatzidavid и соавт.) отражен клинический случай, касающийся 51-летней пациентки с повышенным уровнем гематокрита, гемоглобина, множественными инфарктами печени, селезенки, левой почки, асцитом и тяжелыми тромботическими событиями без признаков гемолиза. При обследовании выявлены мутация V617F в гене *JAK2* и значительная популяция клеток с ПНГ-фенотипом (размер клона среди эритроцитов > 90 %). Диагностировано два заболевания:  $JAK2^{V617F}$ -позитивная ИП и ПНГ, протекающие с висцеральными тромбозами [29].

S. Park и соавт. в журнале «Diagnostics» в 2021 г. представили клиническое наблюдение, когда у пациента с ПМФ и ПНГ помимо мутации  $JAK2^{V617F}$  и ПНГ-клона также обнаружены мутация U2AF1Q157 и мутация в гене *SETBP1*. Оба заболевания диагностированы одновременно в период первичного обследования пациента [30].

J.A. Giannotta и соавт. в журнале «Frontiers in Oncology» в 2021 г. описали клинический случай, когда диагноз ПНГ поставлен после 10 лет наблюдения за больным ЭТ с трансформацией в МФ [31].

В 2022 г. в Великобритании опубликована статья, в которой обсуждался пациент с анемией (гемоглобин — 60 г/л), симптомами гладкомышечной дистонии в виде спазмов пищевода и эректильной дисфункции, отсутствием лабораторных признаков гемолиза. В результате комплексного обследования

диагностировано одновременно два заболевания: ПМФ и ПНГ [32].

Выявление нескольких мутаций у одного пациента, встречающихся при разных заболеваниях, требует анализа частоты подобных ситуаций с изучением возможных генетических связей, общности патогенеза, влияния клонов ПНГ на фенотип ХМПН и наоборот. Кроме того, важно определить значение для клиники и насколько это влияет на выбор тактики ведения такой категории больных.

В 2019 г. опубликована работа O. Gutwein и соавт., которые обследовали пациентов с ХМПН в одной из клиник Израиля [33]. В исследование включено 98 больных с ХМПН, в т. ч. с ИП, ЭТ, первичным и вторичным МФ, неклассифицированным вариантом МПН. В 95 % случаев была выявлена мутация в гене *JAK2*, в 24 % — в гене *CALR*, в 4 % — в гене *MPL*. У 37 % больных имели место тромбозы в анамнезе. Всем пациентам проводилось тестирование на наличие клона ПНГ среди эритроцитов и лейкоцитов крови методом проточной цитометрии. Клон клеток с ПНГ-фенотипом обнаружен у 2 (2 %) больных: в 1 случае — с ИП, в другом — с неклассифицированным вариантом МПН. Авторы подчеркнули, что каких-либо особенностей у пациентов с клоном ПНГ в сравнении с другими больными с аналогичным диагнозом отметить не удалось, и связали это с малым числом наблюдений. Показано, что клон ПНГ при ХМПН встречается с той же частотой, что и при МДС, чаще у  $JAK2^{V617F}$ -позитивных пациентов [33].

Группа итальянских исследователей во главе с V. Fattizzo и соавт. [8] пыталась проанализировать частоту клона ПНГ у пациентов с подозрением на заболевания, связанные с нарушениями в миелоидном ростке и необъяснимыми тромбозами. В исследование включено 3085 пациентов, у 94 из них установлен ХМПН, у 101 — МДС/МПН. Клон ПНГ любого размера (> 0,01 %) среди гранулоцитов был обнаружен у 25 % больных ( $n = 774$ ), в т. ч. у 17 % — с ХМПН ( $n = 16$ ) и 9 % — с МДС/МПН ( $n = 9$ ). В работе показано, что пациенты с ПНГ-клоном в отличие от остальных больных из общей когорты были более молодого возраста, у них наблюдались более глубокие цитопении и более высокий уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Помимо клинико-лабораторных отличий продемонстрировано, что общая выживаемость пациентов с ПНГ-клоном оказалась значимо лучше и зависела от размера клона. Кроме того, авторы оценили размеры ПНГ-клонов и показали, что для классической ПНГ более характерен большой клон размером более 50 %, для АА/ПНГ — средний клон (10–50 %), для МДС/ПНГ — малый клон (< 10 %). Группы ХМПН и МДС/МПН характеризовались наличием исключительно минорного клона клеток (< 1 %) с ПНГ-фенотипом [8].

В 2014 г. подобное исследование провели A. Nazha и соавт. Анализу подвергнуты данные 1000 пациентов с ХМПН из 5-летнего архива The University of Texas MD Anderson Cancer Center. Только у 62 из 1000 больных (41 — ПМФ, 13 — постполицитемический МФ, 8 — посттромбоцитемический МФ) в связи с глубокой анемией (гемоглобин < 100 г/л) предпринято исследование крови на наличие ПНГ-клона. Ни у одного пациента ПНГ-клон не обнаружен [34].

Противоположные по подходу работы (поиск ХМПН у пациентов с ПНГ-клоном) выполнены J.P. Cooper и соавт. в 2019 г., S.J. Richards и соавт. в 2020 г. [35, 36]. J.P. Cooper и соавт. опубликовали ретроспективные данные о диагностировании МФ у 2 из 55 пациентов с ПНГ [35]. S.J. Richards и соавт. провели ретроспективный анализ историй болезни 1081 пациента с ПНГ-клоном, которых авторы наблюдали последние 25 лет. Выявлено 5 случаев сочетания ПНГ с ХМПН (1 — МФ *CALR*+, 1 — ИП *JAK2*+, 3 — неклассифицированный вариант МПН *JAK2*+). Авторы отметили, что случаи, связанные с миелопролиферативными заболеваниями, могли иметь как малый, так и большой клон ПНГ [36].

Исследование данных большой когорты пациентов с ПНГ провели в 2020 г. J. Li и соавт. [37]. У больных с ПНГ определяли мутационный статус ряда генов методом секвенирования нового поколения (NGS). При этом авторы обнаружили, что у некоторых пациентов с ПНГ встречались мутации в наиболее характерных для миелоидных опухолей генах (*CALR*, *ASXL1*, *TET2*, *IDH1*, *EZH2*, *FLT3-IDH* и др.).

К сожалению, работ, посвященных возможной связи механизмов развития ПНГ и ХМПН, практически нет. По этой причине представляется интересным японское исследование у пациентов с ПНГ, в рамках которого проводилось полноэкзомное секвенирование ПНГ-положительных и ПНГ-отрицательных клонов в динамике у 12 больных и глубокое таргетное секвенирование клонов — у 36 [38]. О разнообразии мутаций в гене *PIGA* свидетельствует тот факт, что в ПНГ-положительных кломах были обнаружены 3 нонсенс-мутации, 21 мутация со сдвигом рамки считывания, 5 миссенс-мутаций и 11 мутаций в сайте сплайсинга, а также 2 случая микроделеций, включавших локус гена *PIGA*. Кроме того, установлены гетерозиготные соматические мутации без потери гетерозиготности в 21 гене, связанном с МПН, причем в ПНГ-кломах они не выявлялись. Изучение клональной архитектуры дало возможность определить последовательность возникновения клонов. Проводился также субклональный анализ, позволивший изучить расположение мутаций в одном или разных кломах. В работе показано существование 4 сценариев развития ПНГ клона: биклональный вариант с появлением мутации в гене *PIGA* и последующим присоединением другой мутации или нескольких мутаций; биклональный вариант с появлением мутации в гене *PIGA* как второго или последующего события; возникновение изолированного ПНГ-клона без дополнительных мутаций; поликлональный вариант, при котором сосуществуют отдельные клоны с мутацией в гене *PIGA* и с другой мутацией (или мутациями) [38]. Эти данные позволили предположить, что ПНГ (клональное, но незлокачественное заболевание) демонстрирует клональную архитектуру, сходную с лейкозной.

## КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Диагноз ПНГ ставили на основании характерной клинической и лабораторной картины внутрисосудистого гемолиза и выявления в периферической

крови ПНГ-клона методом проточной цитометрии [1]. Верификацию нозологической формы внутри группы ХМПН проводили согласно критериям ВОЗ 2016 г. [39]. Прогностическую оценку риска прогрессирования ПМФ осуществляли в соответствии с клиническими шкалами IPSS (International Prognostic Scoring System — Международная прогностическая шкала) [40], DIPSS (Dynamic International Prognostic Scoring System — Международная динамическая прогностическая шкала) [41], DIPSS+ (Dynamic International Prognostic Scoring System+) [42].

Пациентам проведено комплексное клинико-гематологическое обследование: исследование гемограммы, выполнение прямой и непрямой проб Кумбса, биохимический анализ и иммунофенотипирование клеток крови (гранулоциты, моноциты) на предмет выявления клона ПНГ, цитологическое, гистологическое и цитогенетическое исследования костного мозга, молекулярно-генетическое исследование крови для определения драйверных мутаций, рентгенологическое исследование грудной клетки, УЗИ органов брюшной полости, эзофагогастродуоденоскопия, колоноскопия, клинический анализ мочи.

### Клиническое наблюдение 1

Мужчина, 1938 года рождения. Длительное время страдал ишемической болезнью сердца, стенокардией напряжения (II функциональный класс). С 2015 г., в возрасте 77 лет, наблюдались фибрилляция предсердий, постоянная тахи-бради форма, синкопальные состояния. В связи с этим в ноябре 2016 г. имплантирован кардиостимулятор. Кроме того, больной в 2016 г. перенес острое нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу в бассейне правой средней мозговой артерии. В анамнезе с 2006 г. — сахарный диабет 2-го типа.

В августе 2017 г. впервые выявлены гипохромная нормоцитарная анемия средней степени тяжести (гемоглобин — 86 г/л), тромбоцитоз с числом тромбоцитов  $1009 \times 10^9$ /л, содержание лейкоцитов —  $5,6 \times 10^9$ /л, эритроцитов —  $3,8 \times 10^{12}$ /л. Терпевшем диагностирована железодефицитная анемия, проводилось лечение препаратами железа с минимальным эффектом (гемоглобин — 80–90 г/л). В октябре 2017 г. пациент направлен к гематологу, проведено комплексное обследование. В ноябре 2017 г. при цитологическом исследовании аспирата костного мозга выявлен полиморфный пунктат с умеренной клеточностью ( $80 \times 10^9$ /л миелокариоцитов, 3,5 % бластных клеток), сужением миелоидного ростка, преобладанием зрелых форм гранулоцитов, гиперплазированным эритроидным рядом, преобладанием полихроматофильных нормобластов. Мегакариоцитарный росток представлен умеренным количеством мегакариоцитов с умеренной отшнуровкой тромбоцитов. В трепанобиоптате — картина гиперклеточного костного мозга с признаками дисплазии мегакариоцитов и начальными признаками фиброза (MF-1). При цитогенетическом исследовании костного мозга — нормальный мужской кариотип. При молекулярно-генетическом исследовании определена мутация в гене *CALR*, тип 1. Рентгенологическое исследование грудной клетки, УЗИ органов брюшной

полости, эзофагогастродуоденоскопия, колоноскопия отклонений от нормы не показали. Поставлен диагноз: МДС, рефрактерная анемия с избытком бластов-1, с признаками фиброза, низкая группа риска по шкале IPSS. Проводилась терапия дезагрегантами, препаратами железа, фолиевой кислотой, эритропоэтином, осуществлялись трансфузии эритроцитсодержащих сред. В августе 2018 г. впервые назначен гидроксикарбамид в дозе 500–1000 мг в сутки внутрь. В результате удалось снизить число тромбоцитов до  $600\text{--}700 \times 10^9/\text{л}$ , а к марту 2020 г. число тромбоцитов в крови не превышало  $400 \times 10^9/\text{л}$ .

С августа 2019 г. параллельно с постепенно нарастающими клиническими симптомами (слабостью, головокружениями, одышкой при минимальной физической нагрузке) появились эпизоды темной мочи, отмечались отрицательная динамика показателей гемограммы (усугубление анемии), повышение ЛДГ, усиление трансфузионной зависимости (2–3 гемотрансфузии в месяц). Пациент в сентябре 2019 г. направлен в Московский городской гематологический центр ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ. Проведено повторное комплексное обследование. В периферической крови отмечались признаки анемии (гемоглобин — 75 г/л), тромбоцитоз (тромбоциты —  $591 \times 10^9/\text{л}$ ), эритроциты —  $2,8 \times 10^{12}/\text{л}$ , лейкоциты —  $5,3 \times 10^9/\text{л}$ , общий билирубин — 24 мкмоль/л, ЛДГ — 2124 МЕ/л, ферритин — 2436 мкг/л. Прямая и непрямая пробы Кумбса — отрицательные. В моче: относительная плотность 1015, белок не обнаружен, эритроциты — 25/мкл, уробилиноген — 33 мкмоль/л. Выполнено иммунофенотипирование клеток периферической крови методом проточной цитометрии. Обнаружены клоны ПНГ среди гранулоцитов FLAER-/CD24- (91,01 %) и моноцитов FLAER-/CD14- (93,54 %). В сентябре 2019 г. при пересмотре трепанобиоптата от ноября 2017 г. выявлена картина ПМФ.

По результатам обследования в Московском городском гематологическом центре ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ постановлен окончательный диагноз: ХМПН, ПМФ (MF-1) с мутацией в гене *CALR*, высокая группа риска по шкале IPSS, промежуточная-2 группа риска по шкалам DIPSS, DIPSS+. ПНГ с размером клона среди гранулоцитов 91,01 %, среди моноцитов — 93,54 %, хронический Кумбс-отрицательный внутрисосудистый гемолиз, кризовое течение, высокая гемотрансфузионная зависимость. Ишемическая болезнь сердца, стенокардия напряжения (II функциональный класс), сахарный диабет 2-го типа, острое нарушение мозгового кровообращения (2016 г.).

В сентябре 2019 г. пациенту продолжена терапия гидроксикарбамидом в разных дозовых режимах — от 500 до 1500 мг/сут внутрь. В связи с высоким уровнем ферритина (> 2000 мкг/л) назначен деферазирокс. В результате удалось нормализовать число тромбоцитов, снизить уровень ферритина до 422 мкг/л. В ноябре 2019 г. проведена вакцинация полисахаридной конъюгированной вакциной для профилактики менингококковых инфекций серогрупп А, С, W, Y. В декабре 2019 г. начато лечение экулизумабом в начальной дозе 600 мг в/в капельно 1 раз в неделю в течение месяца, далее — по 900 мг 1 раз в 2 нед., что позволило нормализовать уровень ЛДГ, уменьшить

степень гемолиза и трансфузионную зависимость. В 2021 г., в возрасте 83 лет, констатирована смерть пациента на фоне тяжелого течения новой коронавирусной инфекции COVID-19.

Таким образом, в описанном клиническом наблюдении ПНГ диагностирована через 2 года после установления хронического Rh-негативного МПН (ПМФ).

### Клиническое наблюдение 2

Мужчина, 1941 года рождения. В анамнезе хронический гастрит, хронический калькулезный холецистит, синдромом Уиллиса—Экбома (Витмака—Экбома, или «синдром беспокойных ног»). В 2012 г., в возрасте 71 год, почувствовал резкую нарастающую слабость. При обследовании отмечено снижение концентрации гемоглобина до 49 г/л. По витальным показаниям выполнены трансфузии эритроцитсодержащих сред. Выявлены лабораторные признаки гемолиза: ретикулоцитоз, повышение уровня непрямого билирубина (35 мкмоль/л) и ЛДГ (1130 МЕ/л). При иммунофенотипировании методом проточной цитометрии обнаружен ПНГ-клон среди эритроцитов CD55-, CD59- размером 93,4 %. По данным других диагностических исследований отклонений от нормы не обнаружено. В 2012 г. поставлен диагноз: ПНГ, классическая гемолитическая форма с размером ПНГ-клона среди эритроцитов 93,4 %, хронический Кумбс-отрицательный внутрисосудистый гемолиз, кризовое течение, высокая гемотрансфузионная зависимость. Проводились гемотрансфузионная терапия (3 дозы эритроцитсодержащих сред каждые 2 мес.), лечение деферазироксом в связи с высоким уровнем сывороточного ферритина (2870 мкг/л).

В мае 2016 г. при обследовании отмечена спленомегалия (по данным УЗИ размеры селезенки  $270 \times 106$  мм). В гемограмме сохранялись анемия (гемоглобин — 47 г/л), содержание эритроцитов —  $1,8 \times 10^{12}/\text{л}$ , умеренная тромбоцитопения (тромбоциты —  $110 \times 10^9/\text{л}$ ), лейкоциты —  $5,2 \times 10^9/\text{л}$ . Уровень ЛДГ составил 1247 МЕ/л, сывороточного ферритина — 1780 мкг/л. В трепанобиоптате выявлены изменения, соответствующие картине остеомиелосклероза с редукцией клеточных элементов гемопоэза в костном мозге. Диагностировано второе гематологическое заболевание: ХМПН, ПМФ (MF-3), высокая группа риска по шкалам IPSS, DIPSS. Больному проводилась терапия гидроксикарбамидом, деферазироксом, продолжались трансфузии эритроцитсодержащих сред. В начале 2019 г., после вакцинации полисахаридной конъюгированной вакциной для профилактики менингококковых инфекций серогрупп А, С, W, Y, назначен экулизумаб в начальной дозе 600 мг в/в капельно 1 раз в неделю в течение месяца, далее — по 900 мг 1 раз в 2 нед. Несмотря на проводимую терапию, сохранялись слабость, спленомегалия, анемия (гемоглобин — 65–70 г/л, эритроциты —  $1,7 \times 10^{12}/\text{л}$ ), трансфузионная зависимость, присоединилась тромбоцитопения, периодически наблюдались носовые кровотечения. В 2020 г. констатирована смерть больного на фоне глубокой прогрессирующей анемии.

Таким образом, в описанном клиническом наблюдении ПНГ и ПМФ диагностированы последовательно с интервалом в 4 года.

## ОБСУЖДЕНИЕ

ПНГ — клональное нарушение кроветворения, при котором клон клеток ПНГ имеет преимущество по отношению к нормальным элементам гемопоэза, подавляемым иммунной системой. Это подтверждается наблюдениями ПНГ, связанной с другими синдромами костномозговой недостаточности, в первую очередь с АА и МДС [8].

Однако клон ПНГ иногда обнаруживается у пациентов без признаков выраженного синдрома недостаточности костного мозга, например при стойкой ремиссии АА.

Ситуации, когда у одного и того же пациента диагностируют ПНГ и ХМПН, крайне редки. Однако опубликованные в литературе 38 случаев сочетанного течения этих заболеваний и наш собственный опыт свидетельствуют о возможности такой комбинации из двух клональных заболеваний системы крови. Вероятнее всего, таких случаев значительно больше, но они либо не представлены, либо не диагностированы. По мнению O. Gutwein и соавт., частота обнаружения клонов ПНГ при МПН аналогична таковой при МДС и составляет 2 и 5 % соответственно [33].

ХМПН так же, как и ПНГ, относятся к клональным заболеваниям системы крови. Несмотря на различия этих нозологических форм, высказываются предположения об общности механизмов их возникновения. Они основаны на том, что в поисковых работах при ХМПН обнаруживают клоны клеток ПНГ [8, 33], а при ПНГ встречаются генетические нарушения, характерные для ХМПН [37], что позволяет предположить возможность поэтапной клональной эволюции. При этом клоны ПНГ выявляются при самых разных ХМПН: МФ ( $n = 13$ ), ИП ( $n = 4$ ), ЭТ ( $n = 3$ ), ХМЛ ( $n = 2$ ), неклассифицированном варианте МПН ( $n = 3$ ) (данные из публикаций, представленных в табл. 1).

Из работы W. Shen и соавт. вытекает, что ПНГ-клон может быть как первичным, так и вторичным событием, т. е. может появляться как до других мутаций, так и после них; кроме того, в самом клоне ПНГ могут возникать дополнительные соматические мутации [38]. Анализ опубликованных работ (см. табл. 1) свидетельствует о возможности выявления клона ПНГ до диагностики ХМПН ( $n = 3$ ), одновременно с обнаружением ХМПН ( $n = 11$ ) и после установления ХМПН ( $n = 8$ ). В ряде публикаций последовательность диагностики ПНГ и ХМПН не указана. Интервал между диагностикой двух заболеваний может достигать 24 лет [27].

ПНГ-клон может персистировать у пациентов с драйверными мутациями в генах *JAK2* ( $n = 11$ ), *CALR* ( $n = 4$ ), *MPL* ( $n = 1$ ), *BCR::ABL* ( $n = 2$ ), а также с обнаруженными у тех же больных мутациями в других генах: *U2AF1*, *SETBP1*, *ASXL1*, *TET2*, *IDH1*, *EZH2*, *FLT3-IDH* и др. [22–30, 35, 37]. Как было показано ранее, многие из перечисленных мутаций имеют достоверно негативное влияние на течение ХМПН [43–45].

ПНГ и ХМПН относятся не только к редким, но и к тяжелым клональным заболеваниям системы крови. Прогноз у пациентов, страдающих каждым из них, зачастую бывает неблагоприятным. Одновременное

течение двух заболеваний с похожим спектром тяжелых осложнений предполагает чрезвычайно негативное развитие разнообразных событий, особенно при появлении дополнительных мутаций неблагоприятного прогноза. К сожалению, ответа на вопрос, влияет ли клон ПНГ на фенотип ХМПН и вероятность развития осложнений, нет. Во многом неблагоприятный прогноз у пациентов обусловлен склонностью как ПНГ, так и ХМПН к развитию тромбогеморрагических осложнений. Важно понимать, когда у пациентов с ХМПН необходимо проводить обследование, направленное на выявление клона ПНГ, а у больных с ПНГ — оценить симптомы и заподозрить ХМПН. Следует ли это делать всем пациентам уже на этапе первичной диагностики, либо поиск должен начинаться только при появлении нехарактерных для каждого из двух заболеваний признаков, а также при неэффективности проводимой терапии? Например, при развитии неконтролируемой анемии у пациентов с ХМПН без признаков фиброза или при выраженной анемии, неадекватной степени фиброза, а также при отсутствии других видимых причин ее возникновения вполне оправдано тестирование на ПНГ-клоны [24, 31]. Появление у пациента с ХМПН темной мочи по аналогии с нашим собственным наблюдением или случаем, описанным А.М. Савриловой и соавт., требует исключения ПНГ [24]. Поводом для дополнительного обследования при ПНГ может служить, например, тромбоцитоз, лейкоцитоз, спленомегалия, как это было в наблюдениях, представленных Y. Chen и соавт. [23], C. Sugimori и соавт. [22]. Гематологи MD Anderson Cancer Center в США на основании анализа данных 62 пациентов с ХМПН, протекающими с тяжелой анемией, у которых ПНГ-клон не обнаружен, делают вывод о том, что обследование больных ХМПН на ПНГ-клон нецелесообразно [34]. Однако наши собственные наблюдения и анализ 22 публикаций, посвященных сочетаниям ХМПН и ПНГ, свидетельствуют об обратном — о необходимости осторожности в отношении возможного присутствия ПНГ-клона.

Открытым для обсуждения остается вопрос тактики лечения при параллельном течении ПНГ и ХМПН. Как правило, рекомендуется проведение терапии по поводу каждого из двух заболеваний либо одного из них при отсутствии необходимости лечения другого.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несомненно, наблюдения сочетаний ПНГ и ХМПН крайне редки. По всей вероятности, именно это обстоятельство служит серьезной причиной отсутствия до настоящего времени крупных многоцентровых клинических исследований на больших когортах пациентов. Сочетания ПНГ с ХМПН, в частности с ПМФ, в отличие от других комбинаций (АА/ПНГ, МДС/ПНГ) с точки зрения патогенетической общности двух заболеваний менее понятны. Скромный вклад авторов настоящей публикации заключается в представлении двух собственных крайне редких документированных клинических наблюдений ПМФ/ПНГ.

## КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

О.Ю. Виноградова, М.М. Панкрашкина, Д.И. Шихбабаева — лекторские гонорары, участие в клинических исследованиях ООО «Новартис фарма», «Генериум».

В.В. Птушкин — лекторские гонорары ООО «Новартис фарма», лекторские гонорары, участие в клинических исследованиях «Генериум».

Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Статья подготовлена по результатам исследований, выполненных за счет бюджетных средств по государственному заданию ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина ДЗМ».

## ВКЛАД АВТОРОВ

**Концепция и дизайн:** О.Ю. Виноградова.

**Сбор и обработка данных:** О.Ю. Виноградова, А.Л. Неверова, М.М. Панкрашкина, Д.И. Шихбабаева, В.П. Косенкова.

**Предоставление материалов исследования:** Е.Г. Аршанская.

**Анализ и интерпретация данных:** О.Ю. Виноградова, А.Л. Неверова, М.М. Панкрашкина, Д.И. Шихбабаева.

**Подготовка рукописи:** О.Ю. Виноградова, А.Л. Неверова, М.М. Панкрашкина, Д.И. Шихбабаева.

**Окончательное одобрение рукописи:** О.Ю. Виноградова, В.В. Птушкин.

**Административная поддержка:** О.Ю. Виноградова, В.В. Птушкин.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Клинические рекомендации. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия. Минздрав РФ, 2021 (электронный документ). Доступно по: [https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/695\\_1](https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/695_1). Ссылка активна на 27.12.2023. [Clinical guidelines. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Ministry of Health of the Russian Federation (Internet). Available from: [https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/695\\_1](https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/695_1). Accessed 27.12.2023. (In Russ)]
2. 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. [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. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-333-341. (In Russ)]
3. Кулагин А.Д., Лисуков И.А., Птушкин В.В. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии. Онкогематология. 2014;9(2):20–8. doi: 10.17650/1818-8346-2014-9-2-20-28. [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)]
4. Лисуков И.А., Кулагин А.Д., Афанасьев Б.В. Лечение пароксизмальной ночной гемоглобинурии. Онкогематология. 2012;7(3):49–54. doi: 10.17650/1818-8346-2012-7-3-49-54. [Lisukov IA, Kulagin AD, Afanasyev BV. Treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Oncohematology*. 2012;7(3):49–54. doi: 10.17650/1818-8346-2012-7-3-49-54. (In Russ)]
5. Scheinberg P, Young NS. How I treat acquired aplastic anemia. *Blood*. 2012;120(6):1185–96. doi: 10.1182/blood-2011-12-274019.
6. Morado M, Freire Sandes A, Colado E, et al. Diagnostic screening of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: Prospective multicentric evaluation of the

current medical indications. *Cytometry B Clin Cytom*. 2017;92(5):361–70. doi: 10.1002/cyto.b.21480.

7. Raza A, Ravandi F, Rastogi A, et al. A prospective multicenter study of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells in patients with bone marrow failure. *Cytometry B Clin Cytom*. 2014;86(3):175–82. doi: 10.1002/cyto.b.21139.

8. Fattizzo B, Ireland R, Dunlop A, et al. Clinical and prognostic significance of small paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in myelodysplastic syndrome and aplastic anemia. *Leukemia*. 2021;35(11):3223–31. doi: 10.1038/s41375-021-01190-9.

9. 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.

10. Sharma VR. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: pathogenesis, testing, and diagnosis. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2013;11 Suppl 13(9):2–8.

11. Borowitz MJ, Craig FE, Diguseppe JA, et al. Clinical Cytometry Society. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom*. 2010;78(4):211–30. doi: 10.1002/cyto.b.20525.

12. Меликян А.Л., Ковригина А.М., Суборцева И.Н. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению Ph-негативных миелолифферативных заболеваний (истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии, первичного миелофиброза) (редакция 2020 г.). Клиническая онкогематология. 2021;14(2):262–98. doi: 10.21320/2500-2139-2021-14-2-262-298. [Melikyan AL, Kovrigina AM, Subortseva IN, et al. National Clinical Guidelines on Diagnosis and Treatment of Ph-Negative Myeloproliferative Neoplasms (Polycythemia Vera, Essential Thrombocythemia, and Primary Myelofibrosis) (Edition 2020). *Clinical oncohematology*. 2021;14(2):262–98. doi: 10.21320/2500-2139-2021-14-2-262-298. (In Russ)]

13. Khoury JD, Solary E, Abla O, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1703–19. doi: 10.1038/s41375-022-01613-1.

14. Hansen NE, Killmann SA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in myelofibrosis. *Blood*. 1970;36(4):428–31.

15. Hirai H, Asahara A, Suzuki R. A case of myelofibrosis with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Rinsho Ketsueki*. 1973;14(7):805–11. Japanese.

16. Boyd AW, Parkin JD, Castaldi PA. A Case of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Terminating in a Myeloproliferative Syndrome. *Aust N Z J Med*. 1979;9(2):181–3. doi: 10.1111/j.1445-5994.1979.tb04325.x.

17. Almquist A, Holm J, Wahlin A. Response to busulphan treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and myelofibrosis in one and the same patient. *Acta Med Scand*. 1981;209(1–2):133–5. doi: 10.1111/j.0954-6820.1981.tb11566.x.

18. Graham DL, Gastineau DA. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria as a Marker for Clonal Myelopathy. *Am J Med*. 1992;93(6):671–4. doi: 10.1016/0002-9343(92)90201-1.

19. Nakahata J, Takahashi M, Fuse I, et al. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria With Myelofibrosis: Progression to Acute Myeloblastic Leukemia. *Leuk Lymphoma*. 1993;12(1–2):137–42. doi: 10.3109/10428199309059582.

20. Shaheen SP 2nd, Talwalkar SS, Simons R, Yam L. Acute Lymphoblastic Leukemic Transformation in a Patient with Chronic Idiopathic Myelofibrosis and Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: A Case Report and Review of the Literature. *Arch Pathol Lab Med*. 2005;129(1):96–9. doi: 10.5858/2005-129-96-ALLTIA.

21. Meletis J, Terpos E, Samarkos M, et al. Detection of CD 55 and/or CD59 deficient red cell population in patient with aplastic anemia, myelodysplastic syndromes and myeloproliferative disorders. *Haematologia (Budap)*. 2001;31(1):7–16. doi: 10.1163/15685590151092643.

22. Sugimori C, Padron E, Caceres G, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and concurrent JAK2(V617F) mutation. *Blood Cancer J*. 2012;2(3):e63. doi: 10.1038/bcj.2012.7.

23. Chen Y, Tao S, Deng Y, et al. Chronic myeloid leukemia transformation in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a rare case report with literature review. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(5):8226–9.

24. Саврилова А.М., Костерина А.В., Мартынкевич И.С. Сочетание пароксизмальной ночной гемоглобинурии и миелолифферативного заболевания. Практическая медицина. 2015;4–2(89):101–3. [Savrilova AM, Kosterina AV, Martynkevich IS. Combination of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with myeloproliferative neoplasm. *Prakticheskaya meditsina*. 2015;4–2(89):101–3. (In Russ)]

25. Fraiman YS, Cuka N, Batista D, et al. Development of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in CALR-positive myeloproliferative neoplasm. *J Blood Med*. 2016;7:107–10. doi: 10.2147/JBM.S103473.

26. Tominaga R, Katagiri T, Kataoka K, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria induced by the occurrence of BCR-ABL in a PIGA mutant hematopoietic progenitor cell. *Leukemia*. 2016;30(5):1208–10. doi: 10.1038/leu.2015.268.

27. Gaidano V, Geuna M, Cignetti A, et al. Myeloproliferative neoplasms, thrombosis and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: Is this triad more frequent than we thought? *Hematol Med Oncol*. 2017;2(4). doi: 10.15761/HMO.1000132.

28. Kiritto K. Expansion of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in MPLW515L mutation harboring primary myelofibrosis. *Ann Hematol*. 2020;99(11):2707–9. doi: 10.1007/s00277-020-04088-1.

29. Chatzidavid S, Giannakopoulou N, Diamantopoulos PT, et al. JAK2V617F positive polycythemia vera with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and visceral thromboses: a case report and review of the literature. *Thromb J*. 2021;19(1):16. doi: 10.1186/s12959-021-00269-8.

30. Park S, So MK, Cho MS, et al. Coexistence of Primary Myelofibrosis and Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Clone with JAK2 V617F, U2AF1 and SETBP1 Mutations: A Case Report and Brief Review of Literature. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(9):1644. doi: 10.3390/diagnostics11091644.
31. Giannotta JA, Fattizzo B, Barcellini W. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria in the Context of a Myeloproliferative Neoplasm: A Case Report and Review of the Literature. *Front Oncol*. 2021;11:756589. doi: 10.3389/fonc.2021.756589.
32. Alsalman Z, Alsalman M, Albeshar M, et al. Primary myelofibrosis with concurrent paroxysmal nocturnal haemoglobinuria presenting with erectile dysfunction. *Oxf Med Case Reports*. 2022;2022(5):omac047. doi: 10.1093/omcr/omac047.
33. Gutwein O, Englander Y, Herzog-Tzarfaty K, et al. Prevalence of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Clones in Myeloproliferative Neoplasm Patients: A Cross-Sectional Study. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2019;19(12):812–4. doi: 10.1016/j.clml.2019.07.441.
34. Nazha A, Jorgensen JL, Verstovsek S. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria is not a cause of anemia in patients with myelofibrosis. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(9):2215–6. doi: 10.3109/10428194.2013.876628.
35. Cooper JP, Farah RJ, Stevenson PA, et al. Hematopoietic Cell Transplantation for Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria in the Age of Eculizumab. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25(7):1331–9. doi: 10.1016/j.bbmt.2019.01.033.
36. Richards SJ, Dickinson AJ, Cullen MJ, et al. Presentation clinical, haematological and immunophenotypic features of 1081 patients with GPI-deficient (paroxysmal nocturnal haemoglobinuria) cells detected by flow cytometry. *Br J Haematol*. 2020;189(5):954–66. doi: 10.1111/bjh.16427.
37. Li J, Lin Y, Chen L, et al. Identification of acquired PIGA mutations and additional variants by next-generation sequencing in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Int J Lab Hematol*. 2020;42(4):473–81. doi: 10.1111/ijlh.13228.
38. Shen W, Clemente MJ, Hosono N, et al. Deep sequencing reveals stepwise mutation acquisition in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Clin Invest*. 2014;124(10):4529–38. doi: 10.1172/JCI74747.
39. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391–405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544.
40. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, et al. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood*. 2009;113(13):2895–901. doi: 10.1182/blood-2008-07-170449.
41. Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, et al. A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood*. 2010;115(9):1703–8. doi: 10.1182/blood-2009-09-245837.
42. Gangat N, Caramazza D, Vaidya R, et al. DIPSS Plus: A Refined Dynamic International Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis That Incorporates Prognostic Information From Karyotype, Platelet Count, and Transfusion Status. *J Clin Oncol*. 2011;29(4):392–7. doi: 10.1200/JCO.2010.32.2446.
43. Patel KP, Newberry KJ, Luthra R, et al. Correlation of mutation profile and response in patients with myelofibrosis treated with ruxolitinib. *Blood*. 2015;126(6):790–7. doi: 10.1182/blood-2015-03-633404.
44. Spiegel JY, McNamara C, Kennedy JA, et al. Impact of genomic alterations on outcomes in myelofibrosis patients undergoing JAK1/2 inhibitor therapy. *Blood Adv*. 2017;1(20):1729–38. doi: 10.1182/bloodadvances.2017009530.
45. Виноградова О.Ю., Шихбабаева Д.И., Кобзев Ю.Н. и др. Молекулярные маркеры как возможные предикторы эффективности таргетной терапии миелофиброза: одноцентровое исследование. *Онкогематология*. 2023;18(4):115–34. doi: 10.17650/1818-8346-2023-18-4-115-134. [Vinogradova OYu, Shikhbabaeva DI, Kobzev YuN, et al. Molecular markers as possible efficacy predictors of targeted therapy for myelofibrosis: single-center study. *Oncohematology*. 2023;18(4):115–34. doi: 10.17650/1818-8346-2023-18-4-115-134. (In Russ)]

