

24. Imunitní hemolytické anémie

Jaroslav Čermák, Martin Písačka, Libor Červínek

24.1. Úvod

Autoimunní hemolytická anémie (AIHA) vzniká v důsledku tvorby autoprotilátek namířených proti některému z membránových antigenů erytrocytu, což vede k intravaskulární hemolýze aktivací komplementu, či k zániku erytrocytů s navázanou protilátkou v monocyto-makrofágovém systému sleziny /1/. Základní klasifikace rozděluje autoimunitní hemolytické anémie na primární (idiopatickou) a sekundární, způsobenou přítomností známé vyvolávající příčiny. Podle charakteru přítomných protilátek dělíme onemocnění na AIHA s tepelnými protilátkami (wAIHA), AIHA s chladovými protilátkami (Cas,CAD), AIHA se smíšeným typem protilátek, a paroxysmální chladovou hemoglobinurii (PCH) /2/. Zvlášť řadíme polékové hemolytické anémie. V patogenezi AIHA se uplatňuje porucha prezentace antigenů imunokompetentním buňkám, porucha indukce tolerance T lymfocytů vůči autoantigenům a indukce tvorby protilátek B lymfocyty /3,4/.

24.2. Základní diagnostická a diferenciálně diagnostická vyšetření

Základními úkoly v diagnostice AIHA jsou průkaz imunního původu hemolýzy, odlišení jednotlivých typů imunní hemolýzy a odlišení primární a sekundární hemolýzy /2/.

Periferní krev:

- KO + manuální diferenciální rozpočet + počet retikulocytů (stupeň hemolýzy – zvýšený počet RTC, trombocytopenie (Evansův syndrom), morfologické změny (sférocyty, penízkovatění, aglutinace)
- Imunohematologické vyšetření
 - přímý (DAT) a nepřímý antiglobulinový test
 - přímý aglutinační test (chladové protilátky)
 - testy s monospecifickými séry (proti IgG,IgM, IgA, C3c,C3d)
 - titrace anti IgG a stanovení poměru anti IgG1 a anti IgG3) – ID karty
titr chladových protilátek
 - Donath-Lansteinerův test

- vyloučení aloprotilátek (potransfuzní hemolýza, hemolytická choroba novorozenců, hemolýza po SCT)
- Serologická vyšetření
 - jaterní testy + LD (zvýšení LD, přímého a nepřímého bilirubinu), haptoglobin, volný Hb, urea, kreatinin, minerály, CB+ELFO, hladina imunoglobulinů, imunoELFO
 - anti dsDNA, ANF
 - virologie (HIV, HBV, HCV, parvovirus B19, EBV, mykoplasma)
 - koagulační vyšetření (stupeň hyperkoagulace a rizika trombózy, k vyloučení DIC a trombotické mikroangiopatie)
 - vyloučení kongenitální příčiny hemolýzy (membránové testy, testy erytrocytárních enzymů, vyloučení hemoglobinopatie)

Moč + sediment:

- Průkaz hemoglobinurie, resp. hemosiderinurie

Další vyšetření:

- USG břicha a CT vyšetření břicha a plic (k vyloučení sekundární AIHA)
- Sternální punkce (k vyloučení infiltrace nádorem či MDS)
- Vyloučení Gilbertovy choroby (molekulární genetika)
- Vyloučení hemolýzy způsobené infekcí, mechanicky, oxidačními činidly
- Průtoková cytometrie (k vyloučení PNH)
- Anamnestické údaje – užití některých léků: methyldopa, interferon- α , etanercept, fludarain, cladribin, bendamustin, chlorambucil.

V tabulce 24.1. jsou shrnuty nejčastější příčiny sekundárních imunních hemolytických anémií

Typ hemolytické anémie	Nejčastější příčiny sekundární hemolýzy
AIHA s tepelnými protilátkami	<ul style="list-style-type: none"> - nádory (CLL, lymfomy, solidní nádory) - infekce (hepatitis C, HIV, CMV, VZV, pneumokok) - systémové choroby (lupus erytematodes, Sjögrenův syndrom, sklerodermie)

	- ulcerosní kolitis, primární jaterní cirhóza, sarkoidóza - potransplantační AIHA - syndromy imunní deficience (CVID) - polékové hemolytické anémie
AIHA s chladovými protilátkami (CAD)	- nádory (CLL, lymfomy, solidní nádory) - infekce (mykoplasma, viry včetně EBV) - systémové choroby, po SCT
Paroxysmální chladová Hemoglobinurie (PCD)	- infekce (adenovirus, influenza A, syphilis, CMV, EBV, VZV, spalničky, mykoplasma)
Smíšená AIHA	- lymfomy, lupus erytematodes, infekce

Tabulka 24.1. Nejčastější příčiny sekundárních imunních hemolytických anémii (podle Hill et al. /3/)

24.3. Diferenciální diagnostika /3,5/

- Vrozené hemolytické anémie (dědičná sférocytóza, enzymatické defekty, hemoglobinopatie – autohemolýza, EMA test, hladina erytrocytárních enzymů, elfo Hb, molekulární genetika)
- Paroxysmální noční hemoglobinurie (pozitivní PNH testy, granulocytopenie, trombocytopenie)
- Trombotické mikroangiopatie (schistocyty, trombocytopenie, aktivace koagulačního systému, systémové postižení – ledviny, játra, CNS), mutace ADAMTS 13)
- Gilbertova choroba (nejsou známky hemolýzy , mutace UGT 1A1 genu)
- Vzácně MDS (vysoký stupeň inefektivní erytropoezy, získané membránové mutace)
- Kryoglobulinemie – průkaz kryoglobulinu v periferní krvi

V tabulce 24.2. jsou shrnuty diferenciálně diagnostické serologické nálezy mezi jednotlivými typy imunní hemolýzy.

Parametr	AIHA s tepelnými protilátkami	smíšená AIHA	Chladové aglutininy	Choroba z chladových aglutininů	Paroxysm. chladová Hburie

Přímý antiglobulin. test (DAT)	IgG či IgG + C3d, při nízkém titru jen anti C3d	IgG + C3	negativní	C3	C3
Specifikace protilátky	Rh (vzácně anti-e, anti-E, anti-c)	Bez specifity či anti-I či anti-i u chladové Ab	Většinou anti-I	Většinou anti-I	Většinou anti-P
Titř protilátek (4°C)	Nelze aplikovat	Nízký titř chladových Ab (< 1:64)	Většinou < 1:64	Většinou >1:500, ale i méně	Většinou < 1:64
Teplotní amplituda	Optimální při 37°C	Většinou ≥ 30°C	Většinou < 25°C	Většinou ≥ 30°C	Většinou < 2°C

Tabulka 24.2. Diferenciální diagnostika imunohepatologických nálezů u různých typů imunní hemolytické anémie.

24.4. Léčba

Anémie s tepelnými protilátkami

Léčba první linie

- **Podávání kortikosteroidů**

Dávka a způsob podávání závisí na iniciální hodnotě Hb. U nemocných s lehčí formou hemolýzy s Hb > 80 g/l je podáván prednison v dávce 1.0-1,5mg/kg/den po dobu 3-4 týdnů. Cca 80% pacientů odpoví na úvodní léčbu kortikosteroidy. Nemocní s těžkou formou hemolýzy by měli být hospitalizováni na specializovaném hematologickém oddělení či na jednotce intenzivní péče k podání i.v. kortikoidů (methylprednisolon - SoluMedrol® v dávce 250-1000mg denně po dobu 3-5 dnů) v monoterapii či v kombinaci s i.v. imunoglobuliny (0.5g/kg/den 3-5 dnů) k vyvážení Fcγ receptorů makrofágů či s plasmaféresou při vysokém titru volných cirkulujících protilátek. U pacientů s velmi závažným stavem lze zvážit v rámci kombinované léčby podat kombinaci kortikosteroidů s rituximabem v primoléčbě (6,7).

Jako efektivní léčbu hodnotíme dosažení stabilní hodnoty Hb > 100 g/l bez potřeby transfuzí erytrocytů. Následně je možno dávku kortikosteroidů redukovat o 10-15mg týdně do dávky 20-30mg/den a poté dávku snižovat jen pozvolna o 5mg za 1-2 týdny do dávky 15mg/den a o 2.5mg po 2 týdnech při trvajícím efektu až do vysazení léčby při opakované negativitě PAT .

Léčba druhé linie

Léčba druhé linie je indikována u nemocných refrakterních na léčbu I.linie (nedostatečná odpověď do 3 týdnů po zahájení léčby s trvalou hodnotou Hb < 100 g/l), u nemocných, kde je nutno podávat vysokou udržovací dávku kortikosteroidů (Prednison v dávce > 15mg/den po 6.měsících léčby) a při opakovaných relapsech choroby zejména v prvním roce léčby .

- **Rituximab**

Rituximab je obvykle indikován při selhání 1. linie léčby, celková léčebná odpověď se blíží 79% (8). Obvykle je podávána dávka 375 mg/m² ve 4 dávkách v týdenních intervalech, ale je možné použít i dávkování 1g v den 1 a 15 s přibližně stejnou účinností. Medián času do odpovědi je u WAIHA 3-6 týdnů, 30 % pacientů relabuje po 3 letech od první léčby, pro tyto pacienty je vhodné léčbu rituximabem opakovat (9).

Léčba třetí a další linie

Splenektomie

Splenektomie je indikována u nemocných mladších 65 let v dobrém klinickém stavu ve 3.linii léčby, zejména pokud je možno jí provést laparoskopicky. Odpověď na splenektomii je pozorována přibližně u 65% nemocných, u 30% trvá více než 3 roky a cca 20% nemocných nepotřebuje žádnou další léčbu . V současné době je splenektomie provázena poměrně nízkou mortalitou (2-3%), příčinou mohou být infekce či trombotické komplikace. Nedílnou součástí léčby je proto profylaktické podávání antibiotik po výkonu a profylaxe trombózy nízkomolekulárním heparinem. Vakcinace (pneumokok, hemofilus, meningokok, chřipka) musí být provedena nejméně 2 týdny před splenektomií. (10)

Cyklofosfamid je používán v dávce 100 mg/den, azathioprin (Imuran®) je podáván v dávce 2-3mg/kg/den, cyklosporin A je podáván v iniciální dávce 3 mg/kg/den a dávka je upravována

dle jeho plasmatické hladiny, další používané léky zahrnují mycofenolát mofetil a bortezumib. Z dalších léků byl určitý efekt pozorován u danazolu. U rezistentních forem je v tzv. záchranné léčbě užíván alemtuzumab (Mabcampath®) nebo cyklofosfamid ve vysokých dávkách (50 mg/kg/den 4x). Efekt inhibitorů splenické tyrosin kinázy (fostamatinib) nebyl jednoznačně prokázán.

Záchranná léčba

- **Podávání i.v. imunoglobulinů**

Podávání i.v. imunoglobulinů má za cíl redukci hemolýzy vyvázáním Fcγ receptorů makrofágů, krom toho může působit jako podpůrný obranný mechanismus před možnou infekcí při imunosupresii. Podání je indikováno u těžké hemolýzy k akutnímu zvýšení při poklesu Hb pod 60 g/l, či jako příprava před splenektomií. Dávka i.v. igG činí 0.4-0.5 g/kg/den po dobu 5 dnů. (11)

- **Plazmaferéza**

Plazmaferéza je indikována u nemocných s vysokým titrem volných protilátek v séru, většinou v kombinaci s kortikosteroidy. (12)

- **Podávání transfuzí erytrocytů**

Podávání transfuzí erytrocytů je u těžké formy hemolytické anémie přísně individuální a závisí na hloubce anémie, rychlosti jejího vzniku a na stavu kardiovaskulárního systému nemocného. Vždy je požadováno kompletní imunohepatologické vyšetření včetně vysycení séra s intenzivní genotypizací k odhalení možných skrytých aloprotilátek. Podáváme transfuze kompatibilní v ABO, Rh a Kell systému na lůžku za monitorace nemocného pod clonou kortikosteroidů a pouze 1 TU denně, pokud nejde o vitální indikaci /5/.

Odpověď na léčbu hodnocená trvalým vzestupem hodnoty Hb > 110 g/l, dosažením kompletní remise či stabilizace klinického a laboratorního nálezu je pozorována u 70-85% nemocných. Nicméně, trvalého vyléčení dosáhne méně než 20% nemocných /7/. U poloviny nemocných je třeba podávat kortikosteroidy dlouhodobě v udržovací dávce, u 20-30 % nemocných pak v kombinaci s jinými imunosupresivy. Celková doba podávání kortikosteroidů má být nejméně 3-4 měsíce (u nemocných léčených kratší dobu bývá vyšší incidence relapsů choroby), všichni nemocní by měli být vyšetřeni na možnou přítomnost vyvolávající choroby (zánět, nádor).

Léčba AIHA s IgM protilátkami - CAD (nemoc z chladových aglutininů)

Léčba je indikována u zhruba poloviny nemocných, kteří mají příznaky choroby (symptomy hemolýzy, pokles Hb pod 90-100 g/l, závislost na transfuzích). Steroidy mají většinou malý efekt, stejně tak není efektivní splenektomie vzhledem k tomu, že erytrocyty s navázaným komplexem C3-IgM jsou přednostně vychytávány jaterními makrofágy.

Léčba první linie

Lékem první linie je u IgM zprostředkované hemolýzy rituximab, s léčebnou odpovědí u cca 50 % nemocných (13). Jako účinnější se jeví kombinovaná léčba, a to v kombinaci s bendamustinem či fludarabinem. Při užití kombinace rituximabu s fludarabinem bylo dosaženo kompletní remise až u 74 % nemocných (14).

Jako velmi účinná léčba se jeví kombinace rituximabu s bendamustinem v dávkování rituximab 375 mg/m² a bendamustin 90 mg/m², den 1 a 2 s 71% léčebou odpovědí, a 40% dosažením kompletní remise (15).

Recentně byl registrován k léčbě CAD sutimlimab (Enjaymo®). Jedná se o inhibitor C1s enzymu, čímž je blokována aktivace komplementové kaskády způsobená vazbou IgM na C1 složku komplementu. Přípravek se podává i.v. v dávce 6500-7500 mg 1x týdně prvé 2 týdny a následně 1x za 2 týdny. Indikací podání je anémie s klinickými příznaky (16).

U pacientů s přítomností klonálního lymfoprolifarovacího onemocnění se s výhodou používají inhibitory Brutonovy tyrosinkinasy a to ibrutinib či akalabrutinib (17).

Záchranná léčba

- **Plazmaferéza**

Plazmaferéza je indikována u nemocných v klinicky závažném stavu jako přemostující terapie do nástupu specifické léčby.

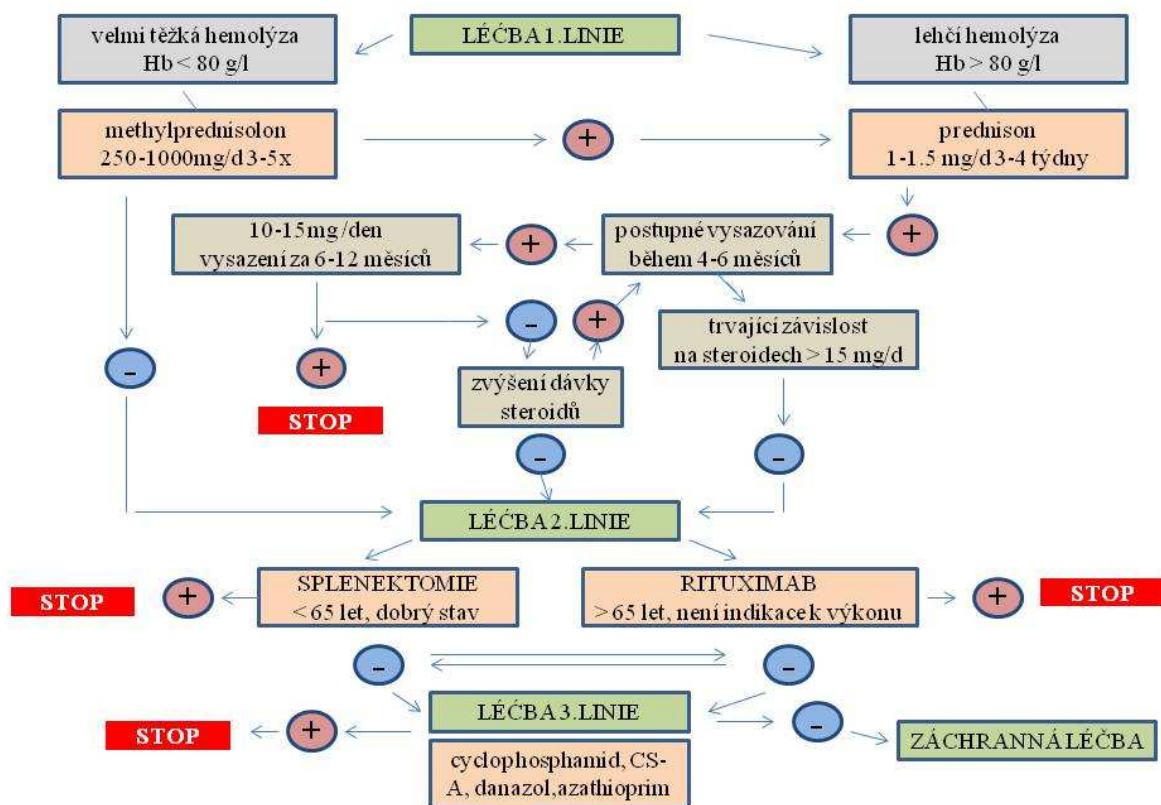
- **Inhibitory komplementární kaskády**

Pro pacienty v závažném klinickém stavu bez odpovědi na ostatní léčebné modalitby byl popsán efekt použití eculizumabu jako inhibitoru C5 komplementární kaskády (18,19).

Doplňková léčba

- prevence trombózy nízkomolekulárním heparinem při akutní exacerbaci hemolýzy
- podávání kyseliny listové (10-20 mg denně)
- protektivní podávání antiulcerosních léků
- prevence osteoporózy (vápník + vitamin D)

Obrázek 24.1. Současný léčebný přístup k nemocným s imunní hemolytickou anémií zprostředkovanou IgG protilátkami.



24.5. Literatura

- 1) Pirofsky B. Immune haemolytic disease: the autoimmune haemolytic anaemias. Clin Haematol 1975;4: 167-180.
- 2) Hill QA, Stamps R, Massey E et al. The diagnosis and management of primary autoimmune haemolytic anaemia. Br J Haematol 2017;176: 395-411.
- 3) Marcus N, Attas D, Tamary H. Autoimmune hemolytic anemia: current understanding of pathophysiology. Hematology Education: educational program of the annual congress of EHA 2014;8: 321-328.
- 4) Noack M, Miossec P. Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases. Autoimmun Rev. 2014;13(6):668-77.
- 5) Čermák J, Písačka M. Autoimunitní hemolytická anémie. Vnitr Lek 2108;64: 514-519.

- 6) Zanella A, Barcellini W: Treatment of autoimmune hemolytic anemias. *Haematologica* 2014; 99 (10): 1547-1554.
- 7) Jäger U, Barcellini W, Broome CM, Gertz MA, Hill A, Hill QA, Jilma B, Kuter DJ, Michel M, Montillo M, Röth A, Zeerleder SS, Berentsen S. Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults: Recommendations from the First International Consensus Meeting. *Blood Rev.* 2020 May;41:100648.
- 8) Reynaud Q, Durieu I, Dutertre M, Ledochowski S, Durupt S, Michallet AS, et al. Efficacy and safety of rituximab in auto-immune hemolytic anemia: a meta-analysis of 21 studies. *Autoimmun Rev.* 2015;14:304–13.
- 9) Penalver FJ, Alvarez-Larran A, Diez-Martin JL, Gallur L, Jarque I, Caballero D, et al. Rituximab is an effective and safe therapeutic alternative in adults with refractory and severe autoimmune hemolytic anemia. *Ann Hematol.* 2010;89:1073–80.
- 10) Akpek G, McAneny D, Weintraub L: Comparative response to splenectomy in Coombs-positive autoimmune hemolytic anemia with or without associated disease. *Amer J Hematol* 1999; 61: 98-102.
- 11) Flores G, Cunningham-Rundles C, Newland AC, Bussel JB: Efficacy of intravenous immunoglobulin in the treatment of autoimmune hemolytic anemias: results in 73 patients. *Am J Hematol* 1993;44: 237-242.
- 12) Szczepiorkowski ZM, Winters JL, Bandarenko N et al.: Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice-evidence-based approach from the Apheresis Applications Committee of the American Society of Hematology. *J Clin Apher* 2010; 25: 83-177.
- 13) Berentsen S, Ulvestad E, Gjertsen BT, Hjorth-Hansen H, Langholm R, Knutsen H, et al. Rituximab for primary chronic cold agglutinin disease: a prospective study of 3 courses of therapy in 27 patients. *Blood.* 2004;103 (8):2925-8.
- 14) Berentsen S, Randen U, Vagan AM, Hjorth-Hansen H, Vik A, Dalgaard J, et al. High response rate and durable remissions following fludarabine and rituximab combination therapy for chronic cold agglutinin disease. *Blood.* 2010;116 (17):3180-4.
- 15) Berentsen S, Randen U, Oksman M, Birgens H, Tvedt THA, Dalgaard J, et al. Bendamustine plus rituximab for chronic cold agglutinin disease: results of a Nordic prospective multicenter trial. *Blood.* 2017;130:537–41.
- 16) Röth A, Barcellini W, D'Sa S et al.: Sutimlimab in Cold Agglutinin Disease. *N Engl J Med* 2021; 384: 1323-1334.

- 17) Treon SP, Tripsas CK, Meid K, Warren D, Varma G, Green R, et al. Ibrutinib in previously treated Waldenstrom's macroglobulinemia. *N Engl J Med.* 2015;372:1430–40.
- 18) Röth A, Bommer M, Hüttmann A, Herich-Terhurne D, Kuklik N, Rekowski J, et al. Eculizumab in cold agglutinin disease (DECADE): an open-label, prospective, bicentric, nonrandomized phase 2 trial. *Blood Adv.* 2018;2:2543–9.
- 19) Röth A, Hüttmann A, Rother RP, Dührsen U, Philipp T. Long-term efficacy of the complement inhibitor eculizumab in cold agglutinin disease. *Blood.* 2009;113:3885–6.