Autoimunitní hemolytická anémie

Jaroslav Čermák^{1,2}, Martin Písačka^{1,2}

¹Ústav klinické a experimentální hematologie 1. LF UK, Praha

²Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Souhrn

Autoimunitní 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. 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, AIHA s chladovými protilátkami, AIHA se smíšeným typem protilátek a paroxysmální chladovou hemoglobinurii. V patogenezi AIHA se uplatňuje porucha prezentace antigenů imunokompetentním buňkám, porucha indukce tolerance T-lymfocytů vůči autoantigenům a indukce tvorby protilátek B-lymfocyty. Základním diagnostickým testem u AIHA je přímý a nepřímý Coombsův antiglobulinový test. V léčbě AIHA s tepelnými protilátkami se v I. linii stále uplatňuje podávání kortikosteroidů. U nemocných neodpovídajících na I. linii léčby je v současnosti ve II. linii léčby doporučována splenektomie či podávání rituximabu, kombinovaná imunosuprese se uplatňuje jako další léčba linie při relapsech či malém efektu I. a II. linie léčby. U choroby z chladových aglutininů je lékem volby rituximab.

Klíčová slova: anémie hemolytická – autoimunita – diagnostika – kortikosteroidy – léčba – patogeneze – rituximab – splenektomie

Autoimmune hemolytic anemia

Summary

Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) is caused by auto-antibodies directed against self red blood cell (RBC) surface antigens. A consequence may be an intravascular hemolysis mediated by activated complement or extravascular hemolysis caused by destruction of complex of RBC with autoantibody in spleen and liver. The basic classification subdivides AIHA in primary/idiopathic and secondary with known underlying disease. A classification according to the thermal range of antibody recognizes warm AIHA, cold agglutinin disease (CAD), mixed AIHA and paroxysmal cold hemoglobinuria. Pathogenesis of AIHA consists of a defective antigen presentation to immunocompetent cells, insufficient process of T-lymphocyte tolerance to autoantigens and induction of autoantibody production by B-lymphocytes. For the diagnosis of AIHA are essential direct and indirect antiglobulin tests. The first-line therapy for warm AIHA is still administration of corticosteroids. For non-responding patients, second-line treatment includes rituximab or splenectomy. Combination of other immunosuppressive drugs represents a third-line treatment for resistant/relapsing patients. Rituximab is a treatment of choice for patients with CAD.

Key words: anemia hemolytic – autoimmunity – corticosteroids – diagnosis – pathogenesis – rituximab – splenectomy – treatment

Úvod

Autoimunitní hemolytická anémie (AIHA) patří mezi tzv. extrakorpuskulární hemolytické anémie, u nichž jsou příčinou destrukce krvinek mechanismy vznikající mimo červenou krvinku. Autoimunitní mechanismy vedou k tvorbě autoprotilátek proti erytrocytům s různými vlastnostmi a různou cílovou specifitou. Vazba protilátek namířených proti některému z membránových antigenů erytrocytu na povrch červené krvinky vede k intravaskulární hemolýze aktivací komplementu, či k zániku erytrocytů s navázanou

protilátkou v monocyto-makrofágovém systému sleziny. Incidence onemocnění je asi 0,6/100 000 obyvatel.

Základní klasifikace rozděluje autoimunitní hemolytické anémie na primární (idiopatickou) a sekundární, způsobenou přítomností známé vyvolávající příčiny (autoimunitní onemocnění, infekce, nádory, léky aj). Podle charakteru přítomných protilátek dělíme onemocnění na AIHA s tepelnými protilátkami, AIHA s chladovými protilátkami, AIHA se smíšeným typem protilátek, paroxysmální chladovou hemoglobinurii a hemolytické anémie vyvolané léky.

Základní rozdělení autoimunitních hemolytických anémií

- AIHA s tepelnými protilátkami
- AIHA s chladovými protilátkami
- AIHA se smíšeným typem protilátek
- paroxysmální chladová hemoglobinurie
- hemolytická anémie způsobená léky

Etiologie a patogeneze

I když v etiopatogenezi autoimunní hemolytické anémie zůstává stále řada nejasností, ukazuje se, že důležitým momentem je ztráta imunologické tolerance vůči antigenům exprimovaným na povrchu erytrocytů. Na tomto procesu se podílejí 3 základní činitelé: porucha prezentace autoantigenů imunokompetentním buňkám, porucha indukce tolerance T-lymfocytů vůči autoantigenům a indukce tvorby protilátek B-lymfocyty (obr. 1) [1].

Porucha prezentace autoantigenů imunokompetentním buňkám

V této fázi se předpokládá určitá defektní funkce tzv. antigen prezentujících buněk (makrofágy, dendritické buňky), porucha maturace těchto buněk může být spojena s poruchou funkce, jež se projevuje defektním zpracováním a abnormální prezentací antigenního podnětu [2]. Důsledkem je chybění apoptotického stimulu pro autoreaktivní T-lymfocyty, jež autoantigeny

za normálních okolností indukují, a naopak přetrvávání imunitního aktivního podnětu. V poslední době se diskutuje i role polymorfismu receptorů pro Fcγ řetězec IgG v indukci imunitní odpovědi [3].

Porucha indukce tolerance T-lymfocytů vůči autoantigenům

Na poruše tolerance T-lymfocytů vůči autoantigenům se kromě přetrvávání imunitního aktivního podnětu vyvolaného autoantigeny podílí i určitá nerovnováha mezi prozánětlivými a protizánětlivými mechanismy. Recentně byl u AIHA popsán zvýšený počet Th17-lymfocytů produkujících IL17, jež se uplatňuje v zánětlivé stimulaci a aktivaci autoreaktivních T-lymfocytů. Naopak, byl zjištěn snížený počet CD4⁺ CD25^{hi} FoxP3⁺ T-regulačních lymfocytů uplatňujících se v inhibici právě Th17 lymfocytů a v udržování autotolerance [4].

Indukce tvorby autoproti látek B-lymfocyty

Aktivace autoreaktivních T-lymfocytů vede k indukci přeměny Th0 na Th1-lymfocyty a k sekreci cytokinů (IFNγ, IL2, TNFβ), jež indukují tvorbu protilátek B-lymfocyty. Oxidativní stres a zvýšená hladina CRP mohou ovlivňovat aktivitu hemolýzy cestou aktivace komplementu a Fcγ receptorů [5].

Charakteristika protilátek a principy hemolýzy

Charakteristika protilátek

V tab je uvedena charakteristika protilátek, jež jsou přítomny u AIHA s tepelnými protilátkami, AIHA s chladovými protilátkami a paroxysmální chladové hemoglobinurie. Tepelné protilátky patří do skupiny IgG, mají optimum aktivity při 37 °C a jsou schopny vázat receptor pro Fcγ či C3b na povrchu makrofágů, vázat komplement díky přítomnosti receptoru pro C1q složkou komplementu a při dostatečně vysokém titru vyvolat jeho aktivaci. Chladové protilátky patří do skupiny IgM, optimum jejich aktivity je při 4 °C, jsou rovněž schopny aktivovat komplement a vázat se na povrchu makrofágů. U paroxysmální chladové hemoglobinurie mají protilátky IgG charakter, avšak maximum jejich aktivity je při 4 °C.

Principy hemolýzy

Schéma 1 znázorňuje základní principy protilátkami vyvolané hemolýzy.

Vazba protilátky na antigen na povrchu erytrocytu může vést přímo k vazbě Fcγ řetězce protilátky s receptorem pro Fcγ na povrchu makrofágu a k fagocytóze erytrocytu s navázanou protilátkou ve slezině.

Vazba antigen-protilátka vede k fixaci C1q složky komplementu a k aktivaci C1-C3b složek komplementu. Při vysokém titru protilátek a dostatečně pevné vazbě může pokračovat aktivace komplementu až k aktivaci jeho termálního komplexu a k intravaskulární hemolýze způsobené aktivovaným komplementem. Pokud je titr protilátek nízký a vazba není pevná, dojde k převaze inhi-

Obr. 1. Mechanismus vzniku autoproti látek u AIHA.

Abnormální prezentace či zpracování antigenu vede k defektu apoptotických signálů pro autoreaktivní T-lymfocyty, které unikají procesu autotolerance a indukují tvorbu protilátek B-lymfocyty, na procesu se podílí zvýšená aktivita Th17-lymfocytů a snížená aktivita Treg-lymfocytů – podrobnosti v textu.

bičních mechanismů komplementu (CD55 a CD59 antigeny) a konverzi C3b složky komplementu na C3d. Erytrocyt s navázanou C3b složkou komplementu pak podléhá extravaskulární hemolýze díky vazbě s C3b receptorem makrofágů zejména v játrech.

IgG zprostředkovaná hemolýza

Základní mechanismy hemolýzy zprostředkované IgG protilátkami jsou uvedeny na [obr. 2](#). Nejčastějším mechanismem u IgG zprostředkované hemolýzy je zánik erytrocytů s navázanou protilátkou ve slezině vazbou Fcγ IgG s receptorem na povrchu makrofágů sleziny. Při vysokém titru protilátek je možná aktivace komple-

mentu s následnou intravaskulární hemolýzou. IgG protilátky jsou většinou polyklonální, přičemž je třeba si uvědomit, že protilátky podtřídy IgG1 a IgG3 jsou účinnější v indukci fagocytózy a vazbě komplementu.

IgM zprostředkovaná hemolýza

Základní mechanismy hemolýzy jsou uvedeny na [obr. 3](#). IgM je pentamer, takže aktivace komplementu je snazší než u IgG a může dojít k aktivaci terminálního komplexu komplementu a intravaskulární hemolýze zejména v chladnějších akrálních partiích organismu. Vazba je však často labilní a v centrálních partiích dochází k uvolnění navázaných protilátek, inhibici aktivace komplementu a vazbě C3b složky

Tab. Charakteristika protilátek u různých typů autoimunitní hemolytické anémie

parametr	AIHA s tepelnými protilátkami	AIHA s chladovými protilátkami	paroxysmální chladová hemoglobinurie
typ protilátky	IgG (vzácně IgA, smíšené či IgM)	IgM	IgG
vazebný antigen erytrocytů	Rh (vzácně protein pásu 3.1, 4 aj)	I/i	P
optimum aktivity	37 °C	4 °C	4 °C
vazba komplementu	C1q (1 vazebné místo)	C1q (2 vazebná místa)	C1q (1 vazebné místo)
vazba na makrofág	Fcγ, C3b	C3b	Fcγ, C3b

Schéma 1. Mechanizmy vzniku hemolýzy u autoimunitní hemolytické anémie

Obr. 2. Mechanizmy IgG zprostředkované hemolýzy

komplementu fixované na erytrocytech s receptorem na jaterních makrofázích a extravaskulární hemolýze.

Diagnostika a diferenciální diagnostika

Základními diagnostickými testy jsou přímý a nepřímý antiglobulinový (Coombsův) test. U AIHA s tepelnými protilátkami je pozitivní přímý Coombsův test (PAT) většinou jak při použití anti-IgG, tak při užití anti C3d, při nízkém titru protilátek však může být pozitivní pouze reakce s anti C3d či může být PAT negativní a je třeba při detekci protilátek užít citlivější metody (např. průtokovou cytometrii). U AIHA s chladovými protilátkami je pozitivní PAT s anti C3d. Při diagnostice AIHA postupujeme od testů s polyspecifickým sérem k monospecifickým sérum pro IgG, IgA, IgM, C3c, C3d a následně při pozitivitě PAT pro IgG určíme titr anti-IgG a poměr anti-IgG1/anti Ig-G3 pomocí ID karet.

V diferenciální diagnostice je třeba odlišit **korpuskulární hemolytické anémie**, u nichž je příčina hemolýzy v defektním erytrocytu, k čemuž slouží speciální testy (autohemolýza, stanovení aktivity erytrocytárních enzymů, ELFO hemoglobinu (Hb), detekce mutací Hb pomocí molekulárně genetických metod). U **paroxysmální noční hemoglobinurie** je intravaskulární hemolýza doprovázena určitým stupněm cytopenie v dalších řadách, PAT je negativní a je přítomen deficit inhibičních systémů komplementu (CD55 a CD59 antigenů) na povrchu erytrocytů, granulocytů a monocytů detekovatelný pomocí průtokové cytometrie. Pro **neimunitní hemolytické anémie** (mikroangiopatická hemolytická anémie, hemolyticko-uremický syndrom) je typická kromě intravaskulární hemolýzy přítomnost schistocytů v periferní krvi a kombinace s poškozením dalších orgánů, zejména ledvin a CNS. U **Gilbertovy choroby** jsou negativní testy na hemolýzu a je možno prokázat mutaci *UGT 1A1* genu. U některých forem **myelodysplastického syndromu** (MDS) s vysokým podílem inefektivní erythropoézy může být přítomna výrazná hemolytická složka, zejména pokud je přítomna přídatná získaná membránová porucha erytrocytů, ale i samotný MDS se může komplikovat hemolýzou na autoimunitním podkladě.

Léčba

Léčba AIHA s IgG protilátkami

Léčba první linie

Lékem první linie je stále podávání **kortikosteroidů**. Dávka a způsob podávání závisí na iniciální hodnotě hemoglobinu (Hb). U nemocných s lehčí formou hemolýzy s Hb > 80 g/l je podáván prednison v dávce 1,0–1,5 mg/kg/den po dobu 3–4 týdnů. Nemocní s těžkou formou hemolýzy by měli být hospitalizováni na specializovaném hematologickém oddělení či na jednotce intenzivní péče k podání i.v. kortikoidů (metylprednisolon – Solu-Medrol® v dávce 250–1 000 mg denně po dobu 3–5 dnů) v monoterapii či v kombinaci s i.v. imunoglobuliny (0,5 g/kg/den 3–5 dnů) k vyvážení Fcγ receptorů makrofágů či s plazmaferézou při vysokém titru volných cirkulujících protilátek. Jako efektivní léčbu hodnotíme dosažení stabilní hodnoty Hb > 100 g/l bez potřeby transfuzí erytrocytů [6]. Následně je možno dávku kortikosteroidů redukovat o 10–15 mg týdně do dávky 20–30 mg/den a poté dávku snižovat jen pozvolna o 5 mg za 1–2 týdny do dávky 15 mg/den a o 2,5 mg po 2 týdnech při trvajícím efektu až do vysazení léčby při opakované negativitě PAT.

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 **jinámi 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 (záněť, nádor).

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 ne-

Obr. 3. Mechanizmy IgM zprostředkované hemolýzy

mocných, u nichž je nutno podávat vysokou udržovací dávku kortikosteroidů (prednison v dávce > 15 mg/den po 6 měsících léčby) a při opakovaných relapsech choroby zejména v 1. roce léčby [6]. U nemocných mladších 65 let v dobrém klinickém stavu je možno ve 2. linii léčby indikovat **splenektomii**, zejména pokud je možno ji provést laparoskopicky. Odpověď na splenektomii je pozorována přibližně u 65 % nemocných, u 30 % trvá více než 3 roky a asi 20 % nemocných nepotřebuje žádnou další léčbu [7]. V současné době je splenektomie provázána poměrně nízkou mortalitou (2–3 %), příčinou mohou být infekce či trombotické komplikace. Nemocní vyžadující po splenektomii další léčbu mohou odpovědět na nízké dávky kortikosteroidů, nebo jsou indikováni k podání rituximabu.

Rituximab (Mabthera®) je indikován při selhání I. linie léčby zejména u nemocných, u nichž není indikována splenektomie. Je podávána dávka 375 mg/m² ve 4 dávkách v týdenních intervalech, efekt u IgG zprostředkované hemolýzy je asi u 50–60 % nemocných [8]. Při selhání léčby rituximabem je možno provést splenektomii (pokud je indikována), podat druhý cyklus rituximabu či některý z léků III. linie. V poslední době je zkoušeno podání nízkých dávek rituximabu (100 mg/m² 4krát) v primoléčbě, efekt byl pozorován téměř u 90 % nemocných [9].

Léčba třetí a další linie

Cyklofosamid je používán v dávce 100 mg/den, **azatioprin** (Imuran®) je podáván v dávce 2–3 mg/kg/den, **cyklosporin A** je podáván v iniciační dávce 3 mg/kg/den a dávka je upravována dle jeho plazmatické hladiny. Z dalších léků byl určitý efekt pozorován u danazolu, a mykofenolát mofetilu. U rezistentních forem je v tzv. záchranné léčbě užíván alemtuzumab (Mabcampath®) nebo cyklofosamid ve vysokých dávkách (50 mg/kg/den 4krát).

Indikace k podání transfuzí erytrocytů závisí na věku, hloubce anémie a rychlosti jejího vzniku a na stavu kardiovaskulárního systému. Vždy je třeba nemocného monitorovat na lůžku a podávat transfuze pod clonou kortikoidů, k vyloučení skrytých aloprotilátek je třeba provést extenzivní genotypizaci.

Léčba AIHA s IgM protilátkami

Léčba je indikována u zhruba poloviny nemocných, kteří mají příznaky choroby (symptomy hemolýzy, pokles Hb pod 90–100 g/l). 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. Lékem I. linie je u IgM zprostředkované hemolýzy **rituximab**, efektivní u asi 85 % nemocných a navozující kompletní remisi u 55–60 % nemocných [10]. Při užití kombinace **rituxi-**

Schéma 2. Léčba hemolýzy zprostředkované protilátkami třídy IgG

mabu s fludarabinem bylo dosaženo kompletní remise až u 74 % nemocných [11].

Paroxysmální chladová hemoglobinurie

Paroxysmální chladová hemoglobinurie je charakterizována intravaskulární hemolýzou s následnou hemoglobinurií po vystavení chladu. Příčinou je přítomnost tzv. bifázického Donathova-Landsteinerova IgG hemolyzinu, jenž se váže na erytrocyty za chladu s následnou aktivací C1q složky komplementu, jejímž důsledkem je intravaskulární lýza erytrocytů aktivovaným komplemmentem. Při teplotě > 10 °C dochází k uvolnění vazby hemolyzinu s erytrocyty a menší část hemolýzy může být způsobena i fagocytózou erytrocytů s navázanou C3b složkou komplementu jaterními makrofágy. Onemocnění se dříve hojně vyskytovalo při lues, dnes je nejčastěji pozorováno u dětí při spalničkách nebo infekci parvovirem B19. U nemocných je pozitivní PAT s C3d a tzv. Donathův-Landsteinerův test, při němž po inkubaci erytrocytů se sérem nemocného za chladu dojde po přidání komplementu k hemolýze při 37 °C.

Sekundární hemolytické anémie

Hemolytická anémie může být jedním z příznaků jiného probíhajícího onemocnění a často může jít dokonce o první příznak. Nejčastěji se jedná o 3 skupiny onemocnění:

- **autoimunitní choroby** (primární progresivní polyartritida – až 20 % nemocných, antifosfolipidový syndrom – 10 %, systémový lupus erythematosus – 7,5 %), většinou mají protilátky charakter IgG a může být přítomen Evansův syndrom
- **závažná onemocnění** (Crohnova choroba a ulcerózní kolitida – 2 %), infekce (CMV, mykoplasma, parvovirus B19)
- **nádory** – nejčastěji lymfoproliferativní onemocnění (T angioimunoblastický lymfom – 15 %, splenický lymfom z marginálních lymfocytů – 10 %, chronická lymfatická leukémie – 5–10 %, lymfoplazmocytní lymfom – 3–5 %, maligní lymfogranulom – 1–2 %), mohou být přítomny jak IgG, tak IgM protilátky (tzv. syndrom chladových aglutininů bývá nejčastěji přítomen u angioimunoplastického lymfomu, lymfoplazmocytního lymfomu a splenických lymfomů)

Výše uvedené nálezy znovu potvrzují důležitost celkového vyšetření všech nemocných s autoimunitní hemolytickou anémií.

Literatura

1. 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.
2. Hawiger D, Inaba K, Dorsett Y et al. Dendritic cells induce peripheral T cell unresponsiveness under steady state conditions in vivo. J Exp Med 2001; 194(6): 769–779.
3. Vidarsson G. Factors contributing to the pathogenesis of IgG-mediated autoimmune disease. Hematology Education: educational program of the annual congress of EHA 2015; 9: 249–256.
4. Noack M, Miossec P. Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases. Autoimmun Rev 2014; 13(6): 668–677. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2013.12.004>>.
5. Kurien BT, Scofield RH. Autoimmunity and oxidatively modified autoantigens. Autoimmun Rev 2008; 7(7): 567–573. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2008.04.019>>.
6. Zanella A, Barcellini W. Treatment of autoimmune hemolytic anemias. Haematologica 2014; 99(10): 1547–1554. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3324/haematol.2014.114561>>.
7. Lechner K, Jager U. How I treat autoimmune hemolytic anemias in adults. Blood 2010; 116(11): 1831–1838. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2010-03-259325>>.
8. Barcellini W, Zanella A. Rituximab therapy for autoimmune haematological diseases. Eur J Intern Med 2011; 22(3): 220–229. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejim.2010.12.016>>.
9. Barcellini W, Zaja F, Zaninoni A et al. Low-dose rituximab in adult patients with idiopathic autoimmune hemolytic anemia: clinical efficacy and biological studies. Blood 2012; 119(16): 3691–3697. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2011-06-363556>>.
10. Berentsen S, Ulvestad E, Gjertsen BT et al. Rituximab for primary chronic cold agglutinin disease: a prospective study of 37 courses of therapy in 27 patients. Blood 2004; 103(8): 2925–2928. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2003-10-3597>>.
11. Berentsen S, Randen U, Vagan AM et al. High response rate and durable remissions following fludarabine and rituximab combination therapy for chronic cold agglutinin disease. Blood 2010; 116(17): 3180–3184. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2010-06-288647>>.

doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.

✉ cermak@uhkt.cz

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

www.uhkt.cz

Doručeno do redakce 3. 12. 2017

Přijato po recenzi 15. 3. 2018