

ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ АУТОИММУННОЙ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ**Д. А. Мадарипова**

Бухарский государственный медицинский институт, Бухара, Узбекистан

Ключевые слова: аутоиммунная гемолитическая анемия, болезни холодных агглютининов, гемолиз, антиглобулиновый тест.

Key words: autoimmune hemolytic anemia, cold agglutinin diseases, hemolysis, antiglobulin test.

Tayanch soʻzlar: autoimmun gemolitik anemiya, sovuq agglutinin kasalliklari, gemoliz, antiglobulin testi.

Диагноз аутоиммунной гемолитической анемии (АИГА) можно поставить с помощью поэтапного подхода, направленного на выявление лабораторных и клинических признаков гемолиза, а затем определить иммунную природу гемолиза прямым путем антиглобулинового теста. Как только исключаются альтернативные причин этих результатов, устанавливается АИГА и необходимо искать вторичные причины, а также выявить тип АИГА. Цель исследования: изучить как можно диагностировать АИГА и его подтипы путем сочетания клинической оценки и лабораторных исследований.

AUTOIMMUN GEMOLITIK ANEMIYANING DIAGNOSTIK MEZONLARI**D. A. Madaripova**

Buxoro davlat tibbiyot instituti, Buxoro, Oʻzbekiston

Klinik va laborator belgilarni aniqlashga qaratilgan bosqichm-bosqich yondashuv yordamida autoimmun gemolitik anemiyani (AIGA) tashxislash mumkin, soʻngra toʻgʻridan toʻgʻri antiglobulin testi orqali gemolizning tabiatini aniqlash mumkin. Ushbu natijalarning muqobil sabablari chiqarib tashlanganidan soʻng, AIGA aniqlanadi va ikkilamchi sabablarni izlash va AIGA turini aniqlash kerak. Tadqiqot maqsadi: AIGA va uning kichik turlarini klinik baholash va laboratoriya sinovlari kombinatsiyasi orqali qanday aniqlash mumkinligini oʻrganish.

DIAGNOSTICS PRINCIPLES OF AUTOIMMUNE HEMOLYTIC ANEMIA**D. A. Madaripova**

Bukhara state medical institute, Bukhara, Uzbekistan

The diagnosis of autoimmune hemolytic anemia (AIHA) can be made using a stepwise approach aimed at identifying laboratory and clinical signs of hemolysis, and then determining the immune nature of the hemolysis directly using an antiglobulin test. When alternative causes for these findings have been ruled out, AIHA should be established and secondary causes must be sought and the type of AIHA identified. The purpose of study is to explore how AIHA and its subtypes can be diagnosed through a combination of clinical assessment and laboratory testing.

Подходы к диагностике аутоиммунной гемолитической анемии.

Аутоиммунная гемолитическая анемия – это декомпенсированный приобретенный гемолиз, вызванный действием иммунной системы хозяина против собственных антигенов эритроцитов. Последующая активация комплемента может повлиять на клиническую картину и является новой мишенью для терапевтических подходов.

При наличии у пациента анемии следует применять поэтапный подход. Первоначальные простые исследования (таблица 1) в первую очередь предупредят врача о том, что гемолиз является причиной анемии. К ним относятся норма-/макроцитарная анемия, повышенное количество ретикулоцитов, повышенный уровень неконъюгированного билирубина, снижение гаптоглобина и мазок крови с полихромазией или более специфическими признаками, такими как сфероциты или агглютинация (рис. 1) [3]. Имея типичную картину, ни один из этих тестов не является полностью чувствительным или специфичным для гемолиза. Например, заболевание печени может привести к увеличению лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и снижению гаптоглобина [1]. Билирубин может быть нормальным при более легком гемолизе, сфероциты не всегда видны. Ретикулоцитопения может возникать при АИГА вследствие инфильтрации костного мозга лимфопролиферативными заболеваниями или инфекции парвовирусом В19 [18]. Однако ретикулоцитопения также наблюдается у значительного меньшинства пациентов при поступлении, несмотря на гиперплазию эритроида в костном мозге. Это может быть вызвано иммунной атакой на предшественников эритроида на поздней стадии или отражать задержку реакции костного мозга, но иногда может сохраняться и прогнозировать более тяжелое клиническое течение [13]. Значительное повышение ЛДГ, фрагментов эритроцитов в мазке или присутствие гемосидерина в моче позволяют предположить преобладающий внутрисосудистый компонент гемолитического процесса [2]. Причин внутрисосудистого гемолиза немного, следовательно, они могут быть очень по-

лезны для последующих исследований. После подтверждения гемолиза необходимо дальнейшее исследование, чтобы установить, является ли этот гемолиз невосприимчивым, главным образом с помощью прямого антиглобулинового теста (ПАТ) [5]. Стандартный ПАТ показывает, что иммуноглобулин G (IgG) и/или комплемент (обычно C3d) связан с мембраной эритроцитов. Аутоантитела также могут относиться к классам IgM и IgA, и в некоторых случаях для их обнаружения можно использовать расширенную панель ПАТ. После выявления гемолитической анемии с положительным результатом ПАТ очевидные причины, такие как отсроченная трансфузионная реакция в результате недавнего переливания крови, аллоиммунный гемолиз после трансплантации паренхиматоз-

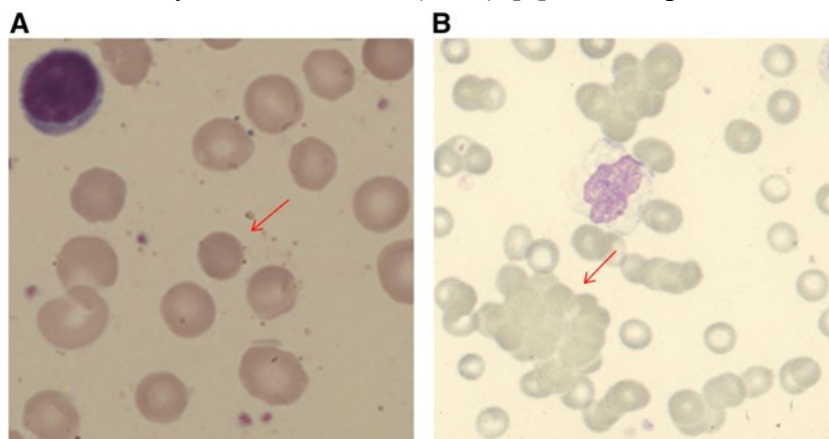


Рис. 1. Внешний вид пленок крови у пациентов с АИГА (оба с использованием окраски Мэй Грюнвальд-Гимза). (А) Сфероциты у пациента с теплой АИГА (оригинал, увеличение x100). (В) Агглютинация эритроцитов у пациента с болезнью холодных агглютининов (x40).

Таблица 1.

Исследования пациентов с АИГА.

Диагностические тесты	Индикаторы для теста
<p>Первичная оценка Гемолитический экран мазок крови, ЛДГ, гаптоглобин, билирубин, ПАТ, подсчет ретикулоцитов с мочой или без мочи на гемосидерин или тест-полоску мочи для микроскопии Выявление основных нарушений (исследование АИГА) Сывороточные Ig и электрофорез с иммунофиксацией* ВИЧ, ВГВ, Анти-dsДНК ВГС, КТ грудной клетки, брюшной полости и таза</p>	
Дополнительное исследование у выбранных пациентов с АИГА	
Исследование костного мозга	БХА, возраст около 60 лет, особенности анамнеза, данные осмотра, мазки, указывающие на возможную инфильтрацию костного мозга
Скрининг инфекций	Зависит от симптомов, истории путешествий и возраста
Периферические субпопуляции Т-клеток, креатинин, свертывание крови	Все дети и при подозрении на синдром Эванса
Парвовирус, гематиновые средства	Если ретикулоцитопения
Дополнительное серологическое исследование у отдельных пациентов с АИГА	
реакция прямой агглютинации (РПА)	Если ПАТ положительный на C3d ±IgG
Титр холодных антител	Если РПА положительный
Донат Ландштейнер	Если ПАТ положителен на C3d ± IgG и РПА-отрицательный или незначительные холодные агглютинины и Возраст до 18 лет или гемоглинурия или простуда сопутствующие симптомы или атипичная серология
Термический диапазон холодных антител	Если клиническое значение холодных аутоагглютининов неясно

ных органов или аллогенных стволовых клеток, лекарственно-индуцированный иммунный гемолиз или гемолитическая болезнь новорожденного, будут быстро идентифицированы путем клинической оценки [11]. При рассмотрении альтернатив следует помнить, что положительный результат ПАТ может возникнуть в результате других процессов, таких как пассивное отложение антител или иммунных комплексов при заболеваниях печени, хронической инфекции, злокачественных новообразованиях, системной красной волчанке (СКВ), почечных заболеваниях и после лекарственной терапии, такой как внутривенное введение Ig или антиtimoцитарного глобулина. Если альтернативная причина не выявлена, можно поставить диагноз АИГА. АИГА может возникать нечасто при отрицательном результате ДАТ при использовании стандартных методов (например, из-за антитела с низкой аффинностью или антигена, лечения только IgA) [9]. Диагноз ДАТ-отрицательной АИГА может быть поставлен после тщательного исключения альтернативных причин гемолиза и подтверждения чувствительным методом, если таковая имеется, и подтверждения ответа на стероидную терапию.

Следующим шагом является исследование сопутствующего заболевания, которое обнаруживается примерно у 50% пациентов, а также дальнейшие серологические тесты для определения типа АИГА, поскольку подходы к лечению различаются (Таблица 1). Предлагаемый путь диагностики АИГА показан на рисунке 2, хотя следует признать, что существуют исключения (например, холодовые антитела с низким титром иногда могут быть клинически значимыми). Таким образом, окончательный диагноз может потребовать обобщения клинической картины и консультации специалиста референс-лаборатории [14].

Примерно у 65% пациентов наблюдается теплая АИГА; это можно диагностировать у пациентов с последовательной клинической картиной и ДАТ-положительным только по IgG или когда ДАТ-положительным по C3d ±IgG, когда клинически значимые холодовые антитела исключены. Первичная болезнь холодовых агглютининов вызвана основным лимфопрлиферативным заболеванием костного мозга, а ее патофизиология описана в других источниках [17]. Гемолиз вызывают антитела IgM, которые наиболее активны *in vitro* при низких температурах. *In vivo* эти антитела связывают эритроциты в более холодном периферическом кровообращении, вызывая агглютинацию, которая у некоторых пациентов приводит к акроцианозу или болезни Рейно [12]. IgM связывает C1q на мембране эритроцитов, активируя классический путь комплемента, но центрально диссоциируя от эритроцитов, что приводит к образованию ПАТ, который характерно положителен только для C3d, хотя иногда также обнаруживается слабоположительный IgG. Этот процесс приводит к внесосудистому удалению эритроцитов, покрытых C3b, ретикулоэндотелиальной системой; однако обострения могут активировать C5, что приводит к внутрисосудистому гемолизу [1]. У пациентов с ДАТ-положительным тестом C3d 6IgG в качестве скринингового теста в местной трансфузионной лаборатории можно провести тест прямой агглютинации, а клинически значимые холодовые агглютинины можно исключить, если нормальные эритроциты, взвешенные в физиологическом растворе, не агглютинируются сывороткой пациента после инкубации при комнатной температуре в течение 30–60 минут [15]. У пациентов с положительным результатом скрининга можно затем оценить титры антител. БХА может быть диагностирована у пациентов с АИГА и ПАТ-положительным тестом C3d ±IgG с последовательной клинической картиной и высоким титром холодо-реактивных антител (титр $\geq 1:64$ при 4°C). Может оказаться полезной оценка тепловой амплитуды антител, которая обычно составляет около 30°C, когда эритроциты суспендированы в 30% бычьим альбумине [13]. Электрофорез сыворотки обычно выявляет моноклональный парапротеин, обычно IgMk, но сыворотку необходимо хранить при температуре 37–38°C с момента отбора проб до тех пор, пока сыворотка не будет удалена из сгустка [10].

Синдром холодовых агглютининов (СХА) может быть диагностирован у пациентов с лабораторными критериями, соответствующими клинически значимым холодовым антителам, которые возникают в связи с вторичными заболеваниями, такими как инфекция, СКВ или агрессивная лимфома.

Смешанная АИГА возникает в результате сочетания теплого антитела IgG и холодно-го антитела IgM. ПАТ обычно положителен на IgG и C3d. Симптомы, связанные с простудой, появляются редко, и антитела к холоду могут иметь низкий титр антител (например,

<1:64), но с температурной амплитудой до 30–37°C. Его можно диагностировать при наличии ДАТ-положительного результата на IgG и C3d, холодowych антителах с температурной амплитудой около 30°C и соответствующей клинической картине.

Пароксизмальная холодовая гемоглобинурия (ПХГ) обычно возникает у детей. Гемоллиз может быть тяжелым и внутрисосудистым, но обычно является преходящим после инфекции [8]. ПХГ вызывается двухфазными антителами IgG, которые связываются с эритроцитами при низкой температуре и вызывают лизис, опосредованный комплементом, при повышении температуры. Его можно диагностировать у пациентов с АИГА при положительном тесте Доната-Ландштейнера. Тестирование следует рассмотреть у пациентов с АИГА и положительным результатом ПАТ на C3d ±IgG (иногда отрицательный результат ПАТ), когда исключена БХА, имеется гемоглобинурия, симптомы, связанные с простудой, атипичные серологические признаки или у пациентов моложе 18 лет [7].

Теплые аутоантитела АИНА обычно направлены против часто встречающегося антигена на поверхности эритроцитов, но ~3% обладают специфичностью (например, анти-e). Критерии диагностики АИГА и ее подтипов, а также определения ответа на лечение различаются в разных исследованиях. Международный консенсус по терминологии и критериям ответа был бы полезен для повышения сопоставимости клинических исследований [14].

Закключение. Выше указанные методы диагностики аутоиммунной гемолитической анемии взаимосвязаны от фазы, первичной оценки, сопутствующей патологии каким бы не являлся метод имеет свою значимую информативность для постановки диагноза. Но следует отметить, что использование только лабораторной или клинической диагностики не является достоверным для подтверждения диагноза. Чтобы получить полноценный точный диагноз необходимо работать методом исключения, и комплексной оценкой клинических данных и лабораторных показателей.

Использованная литература:

1. Berentsen S. How I manage patients with cold agglutinin disease. *Br J Haematol.* 2018;181(3):320-330.
2. Birgens H, Frederiksen H, Hasselbalch HC, et al. A phase III randomized trial comparing glucocorticoid monotherapy versus glucocorticoid and rituximab in patients with autoimmune haemolytic anaemia. *Br J Haematol.* 2013;163(3):393-399.
3. Broome C, Cunningham JM, Mullins M, et al. Incidence of thromboembolic events is increased in a retrospective analysis of a large cold agglutinin disease (CAD) cohort. *Blood.* 2017;130(suppl 1):928.
4. Buckley L, Guyatt G, Fink HA, et al. 2017 American College of Rheumatology guideline for the prevention and treatment of glucocorticoid induced osteoporosis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2017;69(8):1095-1110.
5. Compston J, Cooper A, Cooper C, et al; National Osteoporosis Guideline Group (NOGG). UK clinical guideline for the prevention and treatment of osteoporosis. *Arch Osteoporos.* 2017;12(1):43.
6. Fattizzo B, Zaninoni A, Nesa F, et al. Lessons from very severe, refractory, and fatal primary autoimmune hemolytic anemias. *Am J Hematol.* 2015;90(8):E149-E151.
7. Hill A, Kelly RJ, Hillmen P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood.* 2013;121(25):4985-4996, quiz 5105.
8. Hill QA, Stamps R, Massey E, et al. The diagnosis and management of primary autoimmune haemolytic anaemia. *Br J Haematol.* 2017;176(3): 395-411.
9. Hill QA, Stamps R, Massey E, Grainger JD, Provan D, Hill A; British Society for Haematology Guidelines. Guidelines on the management of drug-induced immune and secondary autoimmune, haemolytic anaemia. *Br J Haematol.* 2017;177(2):208-220.
10. Kulpa J, Skrabs C, Simanek R, et al. Probability of remaining in unsustained complete remission after steroid therapy withdrawal in patients with primary warm-antibody reactive autoimmune hemolytic anemia. *Wien Klin Wochenschr.* 2016;128(7-8):234-237.
11. Liesveld JL, Rowe JM, Lichtman MA. Variability of the erythropoietic response in autoimmune hemolytic anemia: analysis of 109 cases. *Blood.* 1987;69(3):820-826.
12. Milkins C, Berryman J, Cantwell C, et al; British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories. *Transfus Med.* 2013;23(1):3-35.
13. Molica S, Polliack A. Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) associated with chronic lymphocytic leukemia in the current era of targeted therapy. *Leuk Res.* 2016;50:31-36.
14. Montillo M, O'Brien S, Tedeschi A, et al. Ibrutinib in previously treated chronic lymphocytic leukemia patients with autoimmune cytopenias in the RESONATE study. *Blood Cancer J.* 2017;7(2):e524.
15. Roumier M, Loustau V, Guillaud C, et al. Characteristics and outcome of warm autoimmune hemolytic anemia in

- adults: new insights based on a single-center experience with 60 patients. *Am J Hematol.* 2014;89(9): E150-E155.
16. Tjønnfjord E, Vengen OA, Berentsen S, Tjønnfjord GE. Prophylactic use of eculizumab during surgery in chronic cold agglutinin disease. *BMJ Case Rep.* 2017;2017:bcr-2016-219066.
 17. Zoller B, Li X, Sundquist J, Sundquist K. Risk of pulmonary embolism in patients with autoimmune disorders: a nationwide follow-up study from Sweden. *Lancet.* 2012;379(9812):244-249.
 18. Zoller B, Li X, Sundquist J, Sundquist K. Risk of subsequent coronary heart disease in patients hospitalized for immune-mediated diseases: a nationwide follow-up study from Sweden. *PLoS One.* 2012;7(3):e33442.