

# Erworbene autoimmunhämolytische Anämien (AIHA)

## Acquired Autoimmune Hemolytic Anemia

K. Gutensohn<sup>1</sup>, H. Heimpel<sup>2</sup>

**Zusammenfassung:** Die autoimmunhämolytische Anämie (AIHA) wird als die häufigste Ursache aller Hämolysen angesehen [1]. Bei der AIHA, die mit zunehmender Inzidenz auftritt, werden Autoantikörper und/oder Komplementfaktoren gegen erythrozytäre Antigene, aber auch gegen gebundene Antigene auf Erythrozyten oder induzierte Antigene (Neoantigene) gebildet [2, 3]. Nach der Reaktion mit dem komplementären Antigen bzw. den Erythrozyten kommt es zu deren beschleunigtem Abbau, zu einer Verkürzung der Überlebenszeit und konsekutiv zu einer Anämie unterschiedlicher Ausprägung [4]. Die erworbenen, autoimmunhämolytischen Anämien stellen extrakorporale Formen der hämolytischen Anämien dar [5]. Sie können dabei in verschiedene Gruppen unterteilt werden (Tabelle 1). Die wesentlichen Formen sind die durch Wärmeautoantikörper ausgelöste AIHA, die durch Kälteantikörper, die durch eine Kombination aus Wärme- und Kälteautoantikörpern und die paroxysmale Kälte-hämoglobinurie. Daneben gibt es noch die medikamenteninduzierte Form der AIHA [2].

**Schlüsselwörter:** Autoimmunhämolytische Anämie; AIHA; Wärmeautoantikörper; Kälteautoantikörper; Donath-Landsteiner-Antikörper; medikamenteninduziert.

**Summary:** Autoimmune hemolytic anemias (AIHA) may be considered the most common reason of hemolysis [1]. With an increasing incidence, autoantibodies and/or complement are produced against antigens of red blood cells (RBC), but also against membrane-bound antigens on RBC or induced antigens [2, 3]. The reaction with the corresponding antigen or RBC results in an increased rate of sequestration and a reduction of RBC survival time with subsequent anemia [4]. Acquired immune hemolytic anemias represent the extracorporeal forms of hemolytic anemias [5]. AIHA

may be divided into different groups (Table 1) with the most common types being the warm autoimmune hemolytic anemia, the cold autoimmune hemolytic anemia, the paroxysmal cold hemoglobinuria, and the drug-induced immune hemolytic anemia [2].

**Keywords:** autoimmune hemolytic anemia; AIHA; autoantibody; warm AIHA; cold AIHA; paroxysmal AIHA; Donath-Landsteiner autoantibody; drug-induced AIHA.

## AIHA durch Wärmeautoantikörper

### Einleitung

Autoimmunhämolytische Anämien sind am häufigsten durch Wärmeautoantikörper bedingt. Etwa 70-80 % der AIHA werden dieser Form zugeordnet, deren Inzidenz bei ca. 1,2:100.000 liegt. Es handelt sich um eine eigenständige Erkrankung oder um eine Sekundär- oder Begleitreaktion einer Grunderkrankung aller Lebensalter. Kinder sind seltener betroffen [6]. Die idiopathische Form der AIHA vom Wärmetyp tritt häufiger bei Frauen auf, meist ab der 4. Lebensdekade. Sekundäre Formen finden sich bei Patienten mit lymphoproliferativen Erkrankungen oder Autoimmunerkrankungen [7]. In seltenen Fällen sind sie mit soliden Tumoren assoziiert (Ovarialcarcinom, Thymom). Bei Morbus Hodgkin beträgt die Inzidenz ca. 2-3 %, bei Patienten mit einer chronischen lymphatischen Leukämie (CLL) bis zu 25 % [8]. Selten tritt eine primäre AIHA vom Wärmetyp in Kombination mit einer idiopathischen thrombozytopenischen Purpura auf die dann als Evans-Syndrom bezeichnet wird.

### Klinik

Die klinische Manifestation der AIHA vom Wärmetyp ist in Abhängigkeit vom Ausmaß der Hämolyse und Anämie sehr variabel. Akute bis hyperakute Verläufe mit Todesfolge sind selten [9]. Chronische Formen sind häufiger, meist subklinisch und asymptomatisch. In Abhängigkeit vom Kompensationsvermögen der Hämatopoese finden sich Zeichen der Anämie wie Müdigkeit, Blässe und Dyspnoe. Eine Splenomegalie kann vorkommen, bedingt durch die chronische Hämolyse oder durch die Grunderkrankung (v.a. lymphoproliferative Erkrankungen) [2]. Bei akuten Formen, die sich binnen Stunden zu lebensbedrohlichen Zuständen steigern kön-

<sup>1</sup>Abt. für Transfusionsmedizin/Transplantationsimmunologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Deutschland.

<sup>2</sup>Abt. für Hämatologie und Onkologie, Medizinische Klinik, Universitätsklinik Ulm, Deutschland.

Korrespondenzadresse: Priv.-Doz. Dr. Kai Gutensohn, Abt. für Transfusionsmedizin/Transplantationsimmunologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistraße 52, 20246 Hamburg, Deutschland.

Fax: +49 40 42803-5213

E-mail: gutensohn@uke.uni-hamburg.de

**Tabelle 1** Charakteristika der erworbenen autoimmunhämolytischen Anämien (AIHA)

Form der autoimmunhämolytischen Anämie (AIHA)	Häufigkeit (%)	Pathogenese	Hauptsächliche Zielantigene	Antikörper (vorwiegend)	Klinik	Direkter Antihämanglobulintest (AHG-TEST)	Antikörper im Eluat
<b>AIHA durch Wärmeautoantikörper</b>	70–80 %	Antikörper binden an die Erythrozyten bei 20–40°C (Optimum 37°C)	Rhesus-System; e, c, E, D, C (in abnehmender Häufigkeit)	IgG	alle Lebensalter; Kinder seltener betroffen; idiopathisch oder sekundär (lymphoproliferative, maligne, autoimmune Erkrankungen)	fast immer positiv; IgG selten IgA oder IgM; Komplement (30–50 %)	IgG
<b>AIHA durch Kälteautoantikörper</b>	20–25 %	Antikörper binden an die Erythrozyten bei 0–4°C (Optimum)	I, (Pr, H)	IgM, (IgG)	akuter (virale Erkrankungen, Kinder), passagerer oder chronischer Verlauf; idiopathisch (ca. 50 %, ältere Menschen); sekundär (bei Malignomen, malignen Lymphomen)	meist nur Komplement (C3d)	IgM
<b>Akute Kältehäoglobinurie (paroxysmale Kältehäoglobinurie)</b>	1–5 %	Antikörper binden an die Erythrozyten bei niedrigen Temperaturen (4°C) und aktivieren Komplement bei Wiedererwärmung (37°C)	P, selten Pr, i, I	biphasische Autoantikörper Typ Donath-Landsteiner, meist IgG	v.a. postinfektiös, vorwiegend Kinder, Erwachsene heute sehr selten (früher bei Lues)	meist nur Komplement (C3d)	negativ
<b>AIHA durch Wärme- und Kälteautoantikörper</b>	7–8 %	breite Reaktionsamplitude bis 37°C	I, i	IgM, IgG	sekundär (SLE)	IgG, Komplement (C3d)	IgG
<b>Medikamenteninduzierte AIHA</b>							
Autoadsorptionsmechanismus		Hapten-Carrier-Komplex		IgM, IgG	v.a. Penicillin; Cephalosporine, Diclofenac, Carbromal	IgG, Komplement	ggfs. positiv nach Zusatz des Medikaments, negativ ohne Medikament
Immunkomplexmechanismus (Stibophen-Typ)		Bindung der Medikamente an Plasmaproteine + Autoantikörper = Immunkomplex		IgM, IgG v.a. Chinidin; Chinin, Diclofenac, Paraaminosalicylsäure, Phenacetin, Sulfonamide, Cephalosporine, Tetracycline, Antihistaminika	Komplement	negativ	
Autoimmunmechanismus ( $\alpha$ -Methyldopa-Typ)		inkomplette Wärmeautoantikörper	oft Rhesusspezifität	IgG	$\alpha$ -Methyldopa; Levodopa, Chlorpromazin, Nomifensin, Mefenaminsäure, Procainamid	IgG, (Komplement)	positiv (mit und ohne Zusatz des Medikaments)
Nicht-immunologische Proteinausorption (Modifikation der Erythrozytenoberfläche)					Cephalosporine, Cisplatin	pos. dir. AHG-Test möglich, Ig und Komplement	

nen, finden sich klinisch immer ein Ikterus und meist schwere Allgemeinsymptome wie Fieber, Kopf-, Rücken- und Bauchschmerzen als Ausdruck der massiven Hämolyse [6]. Assoziierte Komplikationen bei der akuten Form wie eine disseminierte intravasale Gerinnung oder ein Nierenversagen stellen extreme Manifestationen dar.

### Labor

Die Laborparameter spiegeln das Ausmaß der Hämolyse wider. Bei der häufigsten Verlaufsform, der chronischen AIHA vom Wärmetyp, findet sich eine normozytäre, normochrome Anämie. Fast immer sind die Retikulozyten erhöht, wobei die Resultate eine erhebliche Variabilität in Abhängigkeit von der gewählten Methodik zeigen, insbesondere dann, wenn einzig Thiazolorange zur Detektion verwendet wird [10]. Eine im Rahmen der kompensatorischen Mehrproduktion auftretende Retikulozytose kann eine makrozytäre Anämie vortäuschen die der Fehldiagnose einer megaloblastären Anämie Vorschub leistet. Eine Polychromasie kann vorkommen, Sphärozyten oder Erythroblasten. Bei gleichzeitiger Thrombozytopenie muss an das Evans-Syndrom gedacht werden.

Klinisch-chemische Marker wie die Erhöhung der Laktatdehydrogenase (LDH; LDH/GOT-Quotient) oder des unkonjugierten Bilirubins, bzw. die Erniedrigung des Haptoglobins stehen in Bezug zum Verlauf und zur Ausprägung der AIHA. Eine Erhöhung des freien Hämoglobins oder eine Hämoglobinurie weisen auf eine akute und sehr schwere Verlaufsform hin (Notfall). Das Fehlen eines oder mehrerer der genannten Befunde schließt eine AIHA nicht aus.

### Serologische Laboranalytik

Für die serologische Abklärung des Verdachts einer AIHA sind eine EDTA-(Verhinderung der *in vitro*-Komplementbeladung) und eine Nativblutprobe erforderlich (Untersuchungsalgorithmus siehe Übersichtsartikel Heimpel/Gutensohn in diesem Heft). Das erste Bewertungskriterium im Labor ist die optische Beurteilung der Blutprobe hinsichtlich einer Hämolyse (rötliche Verfärbung des Überstandes; v.a. bei intravasaler H.) oder einer „Gelbfärbung“ (v.a. bei extravasaler H.). Nach vollständiger Gerinnung wird nach der Trennung des Serums von geronnenem Blut dieses erneut optisch bewertet und umgehend mit der weiterführenden Analytik begonnen (37°C) [1].

Der direkte Antihumanglobulintest (AHG-Test; Coombs-Test; DCT) stellt den wesentlichen Parameter bei der Diagnose dar [11]. Mit diesem Test kann die Beladung der Erythrozyten mit Immunglobulinen und/oder Komplement nachgewiesen werden [12]. Polyspezifische Antihumanglobulinseren beinhalten Antikörper gegen verschiedene Immunglobuline wie IgG, IgM, IgA und gegen Komplementfaktoren (C3, C3d), Geltests IgG und C3d. Sofern der Screeningtest mit diesen Reagenzien positiv ausfällt, schließt sich eine weitere Differenzierung an für die monospezifische Testseren

verwendet werden. In speziellen Fällen kann zusätzlich eine Differenzierung der IgG-Subklassen durchgeführt werden [13, 14].

Mit dem dir. AHG-Test können die Wärmeautoantikörper nachgewiesen werden. Deren Reaktionstemperatur liegt zwischen 20–40°C mit einem Reaktionsoptimum bei 37°C (Körpertemperatur). In Ausnahmen kann sich die Temperaturamplitude von 0–44°C erstrecken [1]. Bei der AIHA vom Wärmetyp ist der dir. AHG-Test fast immer positiv [3]. Es handelt sich um IgG-Antikörper, selten um IgA- (ca. 20 %) oder IgM-Antikörper (ca. 10 %) mit und ohne Komplementfixation [1]. Für die Differenzierung der IgG-Subklassen werden Gelkarten oder die Durchflusszytometrie eingesetzt [15, 16]. Am häufigsten finden sich die Subklassen IgG1 und IgG3. Diese führen über die vorwiegende Bindung der Antikörper-beladenen Erythrozyten an Fc-Rezeptoren von Makrophagen zu einer extravasalen Hämolyse durch (partielle) Phagozytose der Erythrozyten in Milz und Leber. Da die Antikörperklassen IgG1 und IgG3 *in vivo* leichter Komplement aktivieren, findet sich im dir. AHG-Test bei ca. 30–50 % der Patienten eine zusätzliche Beladung mit Komplementfaktoren (Anti-C3b, Anti-C3d), bei ca. 10 % eine alleinige Komplementbeladung [2, 5, 6]. Bei 2–4 % der Patienten mit klinischen Zeichen einer AIHA durch Wärmeautoantikörper bleibt der dir. AHG-Test negativ („Coombs-negative“ AIHA) [17]. Die Ursache hierfür ist nicht vollständig geklärt. Möglicherweise sind die IgG-Konzentrationen hier sehr niedrig oder die Dissoziationskonstante ist hoch. Mit den heutigen, sensitiven Nachweismethoden ist der Anteil an Coombs-negativen AIHA deutlich gesunken [18]. Ein Teil der Wärmeautoantikörper wirkt komplementaktivierend, wobei diese meist auf der C3-Stufe arretiert und nur in seltenen Fällen die Bildung der für die Membranattacke verantwortlichen C5b-9-Komplexe induziert (komplette Wärmehämolyse).

Begleitende und weiterführende serologische Untersuchungen sind die Bestimmung der Blutgruppe, des Rhesus-Systems, der Antikörpersuchtest (AKS) und bei positivem AKS die Differenzierung des Antikörpers. Der Nachweis der Antikörperspezifität gelingt meist durch den Einsatz von Test-Erythrozyten oder durch Untersuchung des Serums mit dem indirekten AHG-Tests (indirekten Coombs-Test, ICT). Für die Prüfung der Spezifität des Antikörpers kann eine Elution erforderlich sein, d.h. eine Abspaltung des gebundenen Antikörpers von der Oberfläche der Erythrozyten mit anschließender Differenzierung [19]. Eluierte Antikörper sind inkomplett und reagieren im indir. AHG-Test meist stark.

Die Antikörper weisen in 60–80 % eine Rhesusspezifität auf (Anti-e, Anti-c, Anti-E, Anti-D und Anti-C in abnehmender Häufigkeit). Antikörper gegen das MNS-System (Anti-En<sup>a</sup>, Anti-U), gegen Kell-, Kidd-, Duffy-, Pr-, Wr- oder LW-Blutgruppensysteme und Anti-A kommen vor. Lassen sich Antikörper nicht mit Standardmethoden nachweisen, können empfindlichere

Methoden wie Enzymtechniken (Papain, Bromelin, etc.) in Kombination mit Medien geringer Ionenstärke (LISS), sensitive Festphasentechniken, die Polybrenntechnik, Radioimmun- oder Enzym-Antihumanglobulintests eingesetzt werden [5, 20]. Zu berücksichtigen ist, dass die Antikörperspezifität nicht in allen Fällen geklärt werden kann.

## AIHA durch Kälteautoantikörper

### Einleitung

Ursächlich für ca. 20–25 % der AIHA sind Antikörper vom Kältetyp. Voneinander abgegrenzt werden mehrere Formen: die AIHA durch Kälteautoantikörper als akute, passagere und chronische Verlaufsform (ca. 15–20 % aller AIHA) und die AIHA bedingt durch biphasische Autoantikörper vom Typ Donath-Landsteiner (ca. 1–5 %; akute Kältehäoglobinurie) [2, 21, 22]. Etwa die Hälfte der Fälle sind idiopathisch, vorzugsweise bei älteren Menschen mit einer Häufung in der 6. Lebensdekade. Sekundäre Formen finden sich als Begleitsymptom bei malignen Lymphomen (CLL, Makroglobulinämie Waldenström), seltener bei soliden Tumoren [3].

Meist findet sich eine chronische Verlaufsform durch monoklonale Antikörper [9, 22]. Akute Formen der AIHA durch Kälteautoantikörper (polyklonale Antikörper) treten abrupt auf [23]. Die transiente Form der AIHA findet sich vor allem bei Kindern mit einem Altersgipfel zwischen dem 2.–5. Lebensjahr [24]. Dies trifft auch für die paroxysmale Kältehäoglobinurie zu. Nur noch sehr selten tritt diese Form bei Erwachsenen in Assoziation mit einer Lues auf [25].

### Klinik

Chronische Formen der AIHA vom Kältetyp können klinische Zeichen der Anämie, meist in milder Ausprägung, aufweisen [23]. Die Anämie kann sich jedoch bei Kälteexposition verschlechtern. Durch die gegenüber der Kerntemperatur niedrigen Temperaturen in der Peripherie des Organismus (Akren) kommt es dort, bedingt durch Mikrozirkulationsstörungen zur Akrozyanose, die sich als Raynaud-Symptomatik darstellen kann [26]. Bei der idiopathischen Form der AIHA vom Kältetyp bleibt das klinische Bild meist lange unverändert, wohingegen sekundäre, chronische Formen eng mit dem Verlauf der Grundkrankheit verbunden sind [27].

Bei den akuten Formen handelt es sich um meist reversible Manifestation der AIHA die binnen 3–4 Wochen ausheilen [24, 26]. Sie kommen in der Rekonvaleszenzphase einer Infektion vor, sehr häufig 1–2 Wochen nach einer Mykoplasmenpneumonie, extrem selten nach anderen viralen Erkrankungen (EBV, CMV) [23]. Bei der paroxysmalen Kältehäoglobinurie (etwa 2 % der AIHA) dominieren die sich rasch entwickelnde, schwere Hämolyse und Hämoglobinurie als Leitsymptome, die jedoch selten länger als sieben Tage anhalten. Insbesondere bei Patienten mit Hämoglobinurie unbe-

kannter Genese und bei Kindern mit positivem dir. AHG-Test (Komplement) muss die Differentialdiagnose eine paroxysmale Kältehäoglobinurie berücksichtigen. Da die Autoantikörper bei Kälte stark agglutinieren, kann es auch hier zu Durchblutungsstörungen in der Peripherie kommen. Die Prognose der Erkrankung ist gut, lebensbedrohliche Verläufe sind jedoch beschrieben worden.

### Labor

Klinisch-chemische Parameter können, bedingt durch die Bindung von Komplement und die damit verbundene Hämolyse, das Bild einer chronischen Anämie reflektieren [28]. Da die AIHA durch Kälteautoantikörper häufig durch akute Verläufe charakterisiert ist, finden sich in dieser Phase passagere Veränderungen wie die Erhöhung des freien Hämoglobins im Serum und/oder im Urin. Insbesondere bei der akuten Kältehäoglobinurie gilt der Nachweis von Hämoglobin im Urin als wesentliches diagnostisches Kriterium. Im Blutausstrich finden sich meist weniger Sphärozyten als bei der AIHA durch Wärmeautoantikörper [9]. Einen Hinweis auf eine AIHA durch Kälteautoantikörper kann das Vorliegen von Erythrozytenagglutinaten geben. Sind Agglutinate vorhanden, muss dies für die Interpretation des am hämatologischen Analyser erstellten Blutbildes berücksichtigt werden.

### Serologische Laboranalytik

Zur immunhämatologischen Abklärung sind ebenfalls eine EDTA- und Nativblutprobe (defibriniert) erforderlich. Um eine Bindung der Antikörper bei Abkühlung der Probe zu verhindern, erfolgt bei 37 °C die Trennung in Serum und Erythrozyten [5]. Die klinische Auswirkung eines Antikörpers wird von dessen Titer, der Temperaturamplitude, dessen Affinität und seiner Fähigkeit, Komplement zu binden, bestimmt. Meist sind die Antikörper bei einer AIHA durch Kälteautoantikörper vom IgM-Typ, polyklonal und ohne klinische Folgen. Sie können jedoch im Rahmen der AB0-Bestimmung, dem AKS oder dem Crossmatch dem Unerfahrenen laboranalytische Schwierigkeiten bereiten.

Bei den meisten Gesunden lassen sich niedrigtitrige Kälteantikörper nachweisen. Das Reaktionsoptimum liegt zwischen 0 und 4 °C [29]. Im Gegensatz dazu handelt es sich bei Kälteautoantikörpern, die klinisch auffällig sind, um monoklonale IgM-Antikörper (Kappa Leichtkette), aber auch andere Ig-Klassen (Ig = Immunglobulin; IgG, sehr selten IgA) und Subtypen, die zwischen 30 °C und 32 °C oder höheren Temperaturen reagieren [27]. Diese Temperaturen können in der Peripherie auftreten, so dass dort IgM und Komplement, an die Erythrozyten binden. Auch wenn sich die IgM-Antikörper bei einer Erwärmung des Blutes auf 37 °C Körpertemperatur wieder von den Erythrozyten lösen können, bleibt Komplement, vorwiegend C3b, meist haften [27, 30]. Die Inaktivierung von C3b resultiert in der Bildung von C3dg und/oder C3d. Ein Teil dieser Erythrozyten wird in der Leber sequestriert und führt so zu

einer extravasalen Hämolyse und einer chronischen Anämie, die durch Kälteeinwirkung getriggert werden kann [25]. Wird das Komplement aktiviert, kann es zu einer intravasalen Hämolyse kommen.

Bei den akuten Formen haben die Antikörper bei einer Mykoplasmen-Pneumonie assoziierten Kälteautoantikörper-AIHA (50–80 %) eine Anti-I oder eine Anti-Sia-b1-Spezifität [2]. Bei einer EBV-assoziierten AIHA (Inzidenz 30–50 %) findet man Anti-i-Antikörper. Eine schwere AIHA entwickeln jedoch nur die wenigsten Erkrankten [2]. Bei CMV läßt sich Anti-I selten nachweisen. Noch seltener tritt eine AIHA bei Röteln (Anti-Pr) oder bei Varizella-Zoster-Erkrankungen (Anti-Pr) auf. Ein Anti-H findet sich meist bei A1 oder A1B-Nonsekretoren.

Da sich Kälteautoantikörper häufig gegen das Ii-Blutgruppensystem richten, werden zum Nachweis 0-Nabelschnurerythrozyten (i-positiv, fast vollständig I-negativ) und 0-Erythrozyten Erwachsener (I-positiv) verwendet. Enzym-behandelte Erythrozyten verstärken die Reaktion.

Initial kann bei 4° C der Titer bestimmt werden (Screening), der bei Gesunden meist nicht über 1:64 liegt, bei der chronischen AIHA hingegen oft bei 1:1.000 oder höher. Klinisch relevanter als die Bestimmung des Titers bei 4° C ist die Untersuchung der Wärmeamplitude (4–37° C). Diese nimmt normalerweise bei steigenden Temperaturen deutlich ab. Zeigt sich jedoch bei höheren Temperaturen (>20–37° C) noch immer eine Reaktion kann so die Pathogenität des Antikörpers besser definiert werden. Zusätzlich kann für die Einschätzung des klinischen Verlaufs mit dem dir. AHG-Test der Ig-Typ bestimmt werden (IgM, IgG) der jedoch meist nur für Komplement (C3d) positiv ist, da sich die Antikörper in der Wärme abgelöst haben.

Werden gleichzeitig Alloantikörper in der Probe vermutet, kann die Probe zunächst auf 37° C erwärmt werden. Alloantikörper können dann ohne Interferenzen mit dem Kälteautoantikörper nachgewiesen werden. Möglicherweise muss diesem Schritt jedoch eine Autoadsorption des Kälteautoantikörpers, insbesondere bei hochtitrigen Antikörpern, vorausgehen. Bei niedrigen Temperaturen binden diese an die Erythrozyten des Patienten oder an allogene Erythrozyten.

### Serologische Laboranalytik bei biphasischen Autoantikörpern vom Typ Donath-Landsteiner

Dieser Typus von Autoantikörpern findet sich bei der paroxysmalen Kältehämoglobinurie (akute Kältehämoglobinurie). Wie Kälteagglutinine binden sie bei niedrigen Temperaturen an die Oberfläche der Erythrozyten (1. Phase). Durch die Wiedererwärmung des Blutes im Körperkernbereich (2. Phase) kommt es zu einer Aktivierung von Komplement bis C5b-9 und konsekutiv zu einer intravasalen Hämolyse.

Der dir. AHG-Test ist in der akuten Phase positiv, meist nur für Komplement (Anti-C3d); das Eluat ist negativ [31]. Biphasische Autoantikörper vom Typ Donath-Landsteiner sind vom IgG-Typ (polyklonal). Sie

weisen fast immer eine Anti-P-Spezifität auf, die mit allen normalen Erythrozyten außer p oder P<sup>K</sup>-Zellen reagieren [31]. Die Antikörper können nur von Trägern der Antigene P1 oder P2 gebildet werden. In ganz seltenen Fällen kann auch eine Anti-i, Anti-I (-HI) oder Anti-Pr Spezifität vorliegen [25]. Der Nachweis der Antikörper erfolgt mit dem direkten oder indirekten Donath-Landsteiner-Hämolysetest auf biphasische Hämolyse [9]. Der Test erfolgt mit einer biphasischen Inkubation, d.h. bei Vorinkubation in Kälte und anschließendem Nachweis der Hämolyse bei 37° C [32]. Zur Vermeidung falsch-negativer Ergebnisse durch eine Autoadsorption muss bei 37° C und die umgehende Trennung von Serum und geronnenem Blut erfolgen [5].

### AIHA durch Wärme- und Kälteautoantikörper

Bei ca. 7–8% der Patienten mit einer AIHA finden sich Kälte- und Wärmeautoantikörper [27]. Diese Entität tritt häufig bei einem systemischen Lupus erythematoses (SLE) auf (25–42 %) [2, 33]. Klinisch und laboranalytisch können sich die bereits erwähnten Zeichen bzw. Parameter einer Hämolyse finden. Die IgM-Antikörper sind normalerweise niedrigtitrig mit einem Reaktionsbereich bis zu 37° C. Der dir. AHG-Test ist fast ausnahmslos positiv für IgG und C3d, im Eluat finden sich in der Regel IgG-Autoantikörper [2]. Die Autoantikörper können häufig als Anti-i oder Anti-I differenziert werden, in vielen Fällen ist das Ergebnis jedoch unspezifisch.

### Medikamenteninduzierte hämolytische Anämie

#### Einleitung

Die Angaben über die Häufigkeit Medikament-induzierter Immunnämolysen schwanken erheblich [2, 27]. Über siebzig verschiedene Substanzen sind beschrieben, die zu einem positiven dir. AHG-Test oder einer Immunnämolysen führen können [34]. Übersichten finden sich bei Petz et al. [31], bei Kretschmer und Sonnenborn und weiteren Quellen [32, 35]. Grundsätzlich werden drei verschiedene Pathomechanismen postuliert, eine vierte Form wird diskutiert.

Der **Autoadsorptionsmechanismus** ist vorwiegend mit der Einnahme von Antibiotika assoziiert, insbesondere mit Penicillinen, Cephalosporinen, aber auch dem Sedativum Cabromal und Diclofenac [36, 37]. Dieser Hypothese liegt die Vorstellung zugrunde, dass die Medikamente als Haptene agieren. Alleine sind sie aufgrund ihrer geringen Größe oder Komplexität nicht in der Lage eine Immunantwort zu provozieren. Erst die Bindung der Medikamente mit Proteinen auf der Erythrozytenoberfläche als Carrier resultiert in der gegen den Hapten-Carrier-Komplex (Neoantigen) gerichteten Bildung von Autoantikörpern. Diese reagieren dann mit

Erythrozyten auf denen das Medikament oder der Metabolit gebunden ist.

Der **Immunkomplexmechanismus** (auch Stibophen-Typ) beruht auf der Komplexbildung kleinmolekularer Medikamente mit Plasmaproteinen, die hierdurch immunogene Strukturen bilden [38]. Gegen diese Komplexe können Autoantikörper mit starker Affinität gegen das Medikament gebildet werden. Die Immunkomplexe resultieren dann aus der Bindung von Antikörper und Medikament bzw. deren Metabolite (Medikament - Anti-Medikament-Komplex) [23]. Für die meisten Medikamente, die eine AIHA auslösen können, wird dieser Pathomechanismus vermutet. Wichtige Substanzen sind hier Chinidin, Chinin, Diclofenac, Paraaminosalicylsäure, Phenacetin, Sulfonamide, Cephalosporine, Tetracycline und Antihistaminika [2, 9]. Dieser Pathomechanismus wird jedoch kontrovers diskutiert [22]. Parallel zu der beschriebenen Vorstellung existiert auch die Meinung, dass die Medikamente selbst eine nicht-kovalente Bindung mit Membranproteinen eingehen und so zu einer Bildung von Neopeptiden führen, gegen die dann Antikörper gebildet werden [39].

Als Pathogenese des **Autoimmunmechanismus** (auch  $\alpha$ -Methyldopa-Typ) werden durch Medikamente bedingt inkomplette Wärmeautoantikörper gebildet [23]. Diese Form ist insbesondere mit der Einnahme des Antihypertensivums  $\alpha$ -Methyldopa, mit Levodopa, Chlorpromazin, Nomifensin, Mefenaminsäure und Procainamid assoziiert und wurde erstmals von *Petz et al.* und *Carstairs et al.* beschrieben [40, 41]. Sie zeigten, dass es sich um „echte“ Antikörper gegen Epitope der patienteneigenen Erythrozyten handelt. Die Antikörper sind nicht gegen Medikamente oder Komplexe gerichtet. Die Ursache der Bildung der Autoantikörper ist nicht geklärt. Möglicherweise sind eine Modifikation der immunregulatorischen T-Suppressorzell-Aktivität [42] oder Änderungen der intrinsischen Erythrozytenantigene ursächlich [39]. Eventuell liegt aber diesem, wie auch allen anderen vorgeschlagenen Pathomechanismen, einzig eine universelle Theorie zugrunde die von *Mueller-Eckardt* und *Salama* wie auch von *Habbi* vorgeschlagen wurde [39, 43].

1967 wurde von zwei Gruppen ein potenzieller, vierter Mechanismus diskutiert [44, 45]. Hier wird als Ursache die Modifikation der Erythrozytenoberfläche vermutet, die eine unspezifische Adsorption von Serumproteinen nach sich zieht [25]. Es soll sich um eine **nicht-immunologische Proteinadsorption** im Rahmen der Therapie mit Cephalosporinen handeln [23]. Eine ähnliche Modifikation der Erythrozytenmembran wurde später auch für Cisplatin und weitere Medikamente beschrieben [46].

### Klinik

Beim Autoadsorptionsmechanismus findet sich eine extravasale Hämolyse mit der bereits beschriebenen Symptomatik. Das Ausmaß der Hämolyse korreliert dabei mit der Dosis des Medikaments. Die Hämolyse kann noch für einige Zeit nach Absetzen des Medika-

ments persistieren, ist aber in der Regel binnen weniger Stunden nach Absetzen reversibel [34].

Die Immunkomplexe binden unspezifisch an die Erythrozyten (*innocent bystanders*) und führen über eine Komplementaktivierung zur intravasalen Hämolyse. Die klinischen Symptome sind meist nur wenig ausgeprägt. Eine schwere Hämolyse mit Hämoglobinämie, Hämoglobinurie, und Nierenversagen tritt nur selten auf [2]. Die Hämolyse kann schon bei der Einnahme niedrigster Dosen des Medikaments, insbesondere bei vorausgegangener Exposition, provoziert werden. Eine Anlagerung der Immunkomplexe ist auch an Thrombozyten mit einer konsekutiven Thrombozytopenie möglich.

Die Klinik der AIHA vom  $\alpha$ -Methyldopa-Typ entspricht der einer AIHA vom Wärmetyp. Circa 0,5 % der Patienten die  $\alpha$ -Methyldopa einnehmen, entwickeln eine hämolytische Anämie [2].

Bei der vierten Form, der nicht-immunologischen Proteinadsorption im Rahmen der Modifikation der Erythrozytenoberfläche, konnte bisher noch keine Immunhämolyse nachgewiesen werden [23].

### Serologische Laboranalytik

Die laboranalytische Abklärung einer medikamenteninduzierten AIHA ist grundsätzlich schwierig.

Die AIHA bedingt durch einen Autoadsorptionsmechanismus kann einen positiven dir. AHG-Test aufweisen. In niedriger Dosierung führt Penicillin zur Bildung niedrig-avider Anti-Penicillin IgM-Antikörper, bei hoher Dosierung zur Bildung von IgG-Antikörpern gegen Benzylpenicillin-Determinanten [2]. Bei etwa 3–5 % der Patienten, die hochdosiert oder mehrfach intravenös mit Cephalosporinen oder Penicillinen therapiert werden, fällt der dir. AHG-Test positiv aus, oft noch mehrere Monate nach Absetzen des Medikaments [9]. Entsprechend ist der dir. AHG-Test meist für IgG und/oder für Komplement positiv. Der AKS und die Differenzierung sind negativ, wenn Test-Erythrozyten gegen das Serum oder Eluat des Patienten getestet werden. Medikamentenbeladene Erythrozyten hingegen reagieren mit dem Eluat, gelegentlich auch mit dem Serum positiv [25, 34].

Beim Immunkomplexmechanismus können die Antikörper vom IgM-Typ (meistens) wie auch vom IgG-Typ sein [34]. Der dir. AHG-Test ist in der Regel nur für Komplement positiv, nicht für IgG [6]. Der positive dir. AHG-Test wird meist 2–3 Monate nach Absetzen des Medikaments negativ [9]. Der AKS und die Differenzierung fallen negativ aus, wenn unbehandelte Testzellen gegen das Patientenserum alleine getestet werden. Bei Anwesenheit des Medikaments oder entsprechender Metabolite im Serum kann hingegen eine Reaktion (Agglutination oder Hämolyse) nachgewiesen werden. Das Eluat der Patientenerothrozyten reagiert nicht mit normalen Erythrozyten, auch nicht bei gleichzeitiger Anwesenheit des Medikaments [25].

Etwa 15–20 % der Patienten, die  $\alpha$ -Methyldopa, L-Dopamin oder Procainamid einnehmen, entwickeln ei-

nen positiven dir. AHG-Test [2]. Bei der AIHA vom  $\alpha$ -Methyl-dopa-Typ finden sich Antikörper vom Typ IgG; ein schwach positiver dir. AHG-Test auf Komplement kommt vereinzelt vor. Interessant ist die Abhängigkeit der Reaktionsstärke des dir. AHG-Tests von der Dosis des Medikaments [2]. Die Antikörper sind gegen blutgruppenspezifische Antigene gerichtet und verhalten sich serologisch wie Wärmeautoantikörper. Oftmals haben sie Rhesusspezifität. Ihr Nachweis erfolgt im Serum oder aus dem Eluat des Patienten mit Testerythrozyten ohne den Zusatz von Medikamenten [34]. Die Antikörper verschwinden meist innerhalb eines Monats, können aber vereinzelt noch bis zu zwei Jahren nach Absetzen des Medikaments nachgewiesen werden (dir. AHG-Test positiv) [32].

Bei der Form der nicht-immunologischen Proteinadsorption kann der dir. AHG-Test positiv ausfallen. Dies gilt sowohl für Immunglobuline wie auch für Komplement [34]. Die adsorbierten Antikörper sind jedoch nicht spezifisch gegen die Medikamente, gegen Erythrozyten oder eine Kombination aus Erythrozyt und Medikament.

## Literatur

- Salama A, Mueller-Eckardt C. Klinik und Diagnostik immunhämolytischer Anämien: Giessen, Biotest AG, 1989.
- Hashimoto C. Autoimmune hemolytic anemia. *Clin Rev Allergy Immunol* 1998;16:285–95.
- Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Red cell antibodies against self antigens, bound antigens and induced antigens. In: Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M, eds. *Blood transfusion in clinical medicine*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1994:283–320.
- Sackey K. Hemolytic anemia: Part 1. *Pediatr Rev* 1999;20:152–9.
- Poschmann A. Erworbene hämolytische Anämien durch Antikörper. In: Ostendorf PC, ed. *Hämatologie*. München, Wien, Baltimore: Urban & Schwarzenberg, 1991:327–38.
- Kubaneck B, Wagner F. Therapie mit Erythrozyten. In: Mueller-Eckardt C, ed. *Transfusionsmedizin*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 1996:321–38.
- Schrezenmeier H, Heimpel H. Hämolysediagnostik und Differentialdiagnose hämolytischer Anämien. *Internist* 1998;39:1273–89.
- Sallah S, Sigounas G, Vos P, Wan J, Nguyen N. Autoimmune hemolytic anemia in patients with non-Hodgkin's lymphoma: characteristics and significance. *Ann Oncol* 2000;11:1571–7.
- Eckstein R. Klinische Immunhämatologie. In: Eckstein R, ed. *Immunhämatologie und Transfusionsmedizin*. München, Jena: Urban & Fischer, 2001:180–216.
- Bertsch T, Nebe C. Flow cytometric analysis of reticulocytes. In: Gutensohn K, Sonneborn H-H, Kühnl P, eds. *Aspects of the flow-cytometric analysis of red blood cells*. Heidelberg: Clin Lab Publications, 1997:69–79.
- Coombs R, Mourant A, Race R. A new test for the detection of weak and "incomplete" Rh agglutinins. *Br J Exp Pathol* 1945;26:255–66.
- Wright L, Smith L. Laboratory investigation of autoimmune hemolytic anemia. *Clin Lab Sci* 1999;12:119–22.
- Lynen R, Bernbeck B, Legler T, Köhler M. Studies on the sensitivity of IgG red-cell antibody determination using the gel centrifugation test and flow cytometry. In: Gutensohn K, Sonneborn H-H, Kühnl P, eds. *Aspects of the flow-cytometric analysis of red blood cells*. Heidelberg: Clin Lab Publications, 1997:59–68.
- Fabijanska-Mitek J, Lopienska H, Zupanska B. Gel test application for IgG subclass detection in auto-immune haemolytic anaemia. *Vox Sang* 1997;72:233–7.
- Garratty G, Arndt P. Applications of flow cytofluorometry to transfusion science. *Transfusion* 1995;35:157–78.
- Lynen R, Bernbeck B, Legler T, Köhler M. Flow cytometric determination of IgG subclasses and quantitation of red cell allo- and autoantibodies. In: Gutensohn K, Sonneborn H-H, Kühnl P, eds. *Aspects of the flow-cytometric analysis of red blood cells*. Heidelberg: Clin Lab Publications, 1997:49–58.
- Gilliland B. Coombs-negative immune hemolytic anemia. *Semin Hematol* 1976;13:267–75.
- Eichler H, Kretschmer V. The gel test: investigation into the aetiology and significance of a positive autocontrol. *Infusionsther Transfusionsmed* 1995;22:232–6.
- Panzer S, Salama A, Bödeker R, Mueller-Eckardt C. Quantitative evaluation of elution methods for red cell antibodies. *Vox Sang* 1984;46:330–5.
- Salama A, Mueller-Eckardt C, Bhakdi S. A two-stage immunoradiometric assay with 125I-staphylococcal protein A for the detection of antibodies and complement on human blood cells. *Vox Sang* 1985;48:239–45.
- Roelcke D. Cold agglutinins. *Transfus Med Rev* 1989;3:140–66.
- Salama A, Mueller-Eckardt C. Immunhämolytische Anämien. In: Begemann H, Rastetter J, eds. *Klinische Hämatologie*. Stuttgart: Thieme, 1993:313–35.
- Domen R. An overview of immune hemolytic anemias. *Cleve Clin J Med* 1998;65:89–99.
- Glader B. Hemolytic anemia in children. *Clin Lab Med* 1999;19:87–111.
- Jefferies L. Transfusion therapy in autoimmune hemolytic anemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 1994;8:1087–104.
- Engelfriet CP, Overbeeke M, von dem Borne AK. Autoimmune hemolytic anemia. *Semin Hematol* 1992;29:3–12.
- Beutler E, Luzzatto L. Hemolytic anemia. *Semin Hematol* 1999;36:38–47.
- Kirschfink M, Knoblauch K, Roelcke D. Activation of complement by cold agglutinins. *Infusionsther Transfusionsmed* 1994;21:405–9.
- Ballas S. The pathophysiology of hemolytic anemias. *Transfus Med Rev* 1990;4:236–56.
- Kreft H, Hack H, Roelcke D. Cold agglutinin isotypes. *Infusionsther Transfusionsmed* 1999;26:240–3.
- Petz L. Blood transfusion in acquired hemolytic anemias. In: Petz L, Swisher S, Kleinman S, Spence R, Strauss R, eds. *Clinical practice of transfusion medicine*. New York: Churchill Livingstone, 1995:469–99.
- Kretschmer V, Sonneborn H-H. Blutgruppenantigene und -antikörper. In: Thomas L, ed. *Labor und Diagnose*. Frankfurt a.M.: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, 1998:896–955.
- Kokori S, Ioannidis P, Voulgarelis M, Tzioufas A, Moutsopoulos H. Autoimmune hemolytic anemia in patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 2000;108:198–204.
- Wright M. Drug-induced hemolytic anemias: increasing complications to therapeutic interventions. *Clin Lab Sci* 1999;12:115–22.
- Standards for blood banks and transfusion services. Standards Committee of the American Association of Blood Banks (16th ed.). Arlington, 1994.

36. Ackroyd J. The immunological basis of purpura due to drug hypersensitivity. *Proc R Soc Med* 1962;55:30–6.
37. Agarwal S, Ghosh P, Gupta D. Cardiac surgery and cold-reactive proteins. *Ann Thorac Surg* 1995;60:1143–50.
38. Miescher P, Miescher A. Die Sedormid-Anaphylaxie. *Schweiz Med Wochenschr* 1952;82:1279–82.
39. Mueller-Eckardt C, Salama A. Drug-induced immunocytopenias: a unifying concept with special emphasis on the role of drug metabolites. *Transfus Med Rev* 1990;4:69–77.
40. Petz L. Drug-induced autoimmune hemolytic anemia. *Transfus Med Rev* 1993;8:242-fehl noch.
41. Carstairs K, Breckenridge A, Dollery C, Worlledge S. Incidence of a positive direct Coombs test in patients on alpha methyl-dopa. *Lancet* 1966;2:133–5.
42. Kirkland H, Mohler D, Horwitz D. Methyl-dopa inhibition of suppressor-lymphocyte function. *N Engl J Med* 1980;302:825–32.
43. Habbi B. Drug-induced red blood cell autoantibodies co-developed with drug specific antibodies causing haemolytic anemias. *Br J Haematol* 1985;61:139–43.
44. Gralnick H, Wright L, Eichman M. Coombs positive reactions associated with sodium cephalotin therapy. *JAMA* 1967;199:135–6.
45. Molthan L, Reidenberg M, Eichman M. Positive direct Coombs test due to cephalotin. *N Engl J Med* 1967;277:123–5.
46. Zeger G, Smith L, McQuinston D, Goldfinger D. Cisplatin-induced nonimmunologic adsorption of immunoglobulin by red cells. *Transfusion* 1988;28:493–5.