

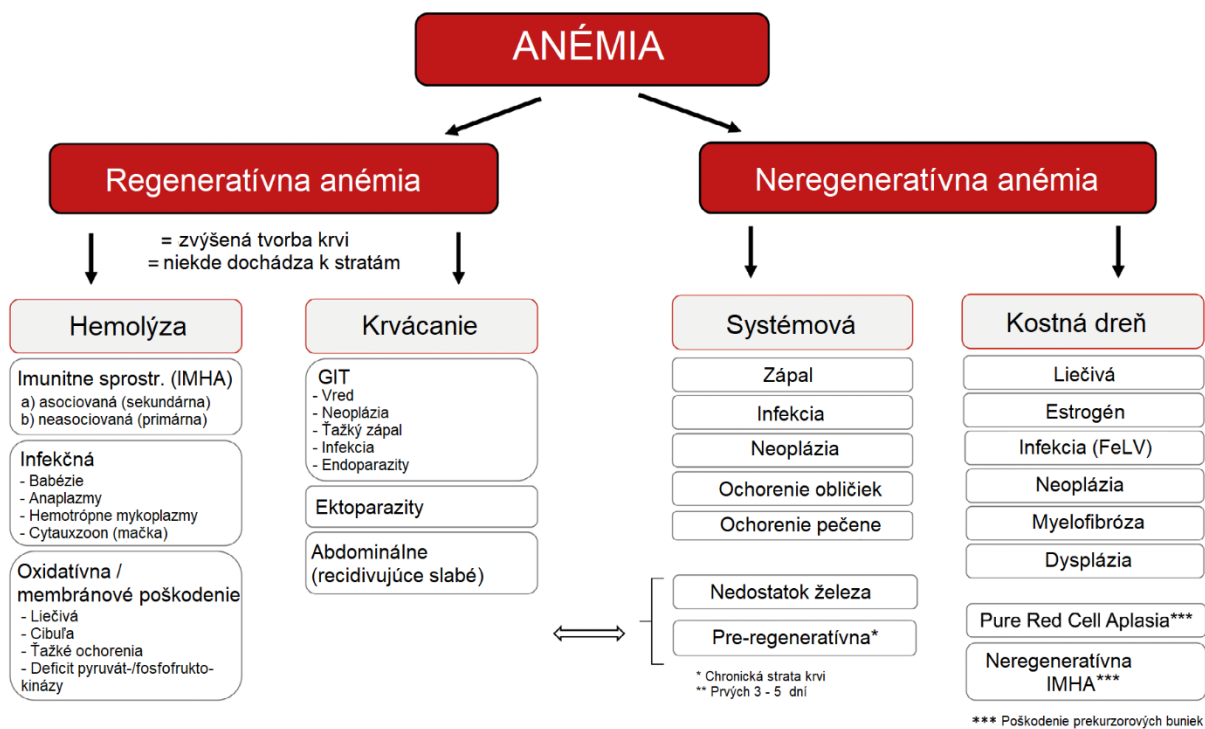
## Imunitne sprostredkované hemolytické anémie (IMHA) – novinky zo stretnutia expertov

Stretnutie expertov za okrúhlym stolom v Labokline sa stáva čoraz významnejšou akciou. Prizvaní odborníci sa intenzívne zaoberajú otázkami publika v moderovanej diskusii. Zhrnuli sme pre vás niekoľko zaujímavých aspektov zo stretnutia o imunitnej hemolytickej anémii (IMHA).

Účastníkmi odbornej diskusie na tému IMHA boli: Prof. Dr. Barbara Kohn z FU v Berlíne. Hematológia je jedným z jej výskumných zameraní. Ako lekárka intenzívnej starostlivosti sa Dr. Esther Haßdenteufel z Univerzity Justusa Liebiga v Giessene často venuje pacientom s IMHA. Dr. Barbara Glanemann z Royal Veterinary College v Anglicku sa významnou mierou podieľala na vypracovaní konsenzuálneho vyhlásenia ACVIM o IMHA. Dr. Annemarie Baur-Kaufhold vedie hematológiu v Labokline. Prof. Dr. Wolfgang Bäumer je riaditeľom Inštitútu pre

farmakológiu a toxikológiu na Katedre veterinárnej medicíny na FU v Berlíne. Na úvod do témy anémie Dr. Glanemann poskytuje prehľad rôznych foriem anémie. Rozdeľuje ich na regeneratívne a neregeneratívne anémie. O regenerácii hovoríme, keď sú prítomné retikulocyty. Medzi možné príčiny patrí strata krvi alebo hemolýza.

**Hemolýza** môže vznikáť rôznymi mechanizmami. Najznámejšou formou hemolýzy je imunitne sprostredkovaná hemolytická anémia (IMHA), pri ktorej imunitný systém tela napáda erythrocyty. Existujú však aj niektoré infekčné agensy, ktoré ničia erythrocyty. Okrem toho môže lýzu erythrocytov spôsobiť poškodenie ich membrány. Bolo to opísané pri oxidačných procesoch (napr. intoxikácia cibuľou alebo



Obr. 1: Diferenciálne diagnózy anémie

Zdroj obrázka: Dr. Jennifer von Luckner

zinkom) alebo vrodených ochoreniach (napr. deficit pyruvátkinázy).

Neregeneratívne anémie sú zvyčajne spôsobené chorobami orgánových systémov (vrátane endokrinopatií), zápalmi alebo problémami s kostnou dreňou.

Anémie, ktoré sa objavujú veľmi akútne (do 3 - 5 dní), ešte nemôžu byť regeneratívne, pretože kostná dreň potrebuje čas na reakciu (pre-regeneratívne). To platí aj pre akútnu hemolýzu. Okrem toho existujú formy IMHA, v ktorých sú napadnuté prekursorové bunky erytroidnej série. Chýbajú im známky regenerácie v krvi, ktoré sú typické pre hemolýzu.

Dr. Baur-Kaufhold dodáva, že pri týchto **neregeneratívnych formách IMHA** sa na základe nálezov v kostnej dreni rozlišuje „Pure Red Cell Aplasia“ (PRCA) a IMHA cielená na prekursorov (= PIMA, nazývaná aj non-regenerative IMHA = nrIMHA). Pri PRCA je v kostnej dreni prítomná erytroidná hypo-/aplázia, zatiaľ čo pri PIMA/nrIMHA je prítomná erytroidná hyperplázia. Prof. Kohn dodáva, že **PRCA** sa **častejšie** vyskytuje **u mačiek** ako u psov.

Otázky **rozdielu** medzi **intravaskulárnou** a **extravaskulárnou hemolýzou** sa ujala Dr. Baur-Kaufhold a vysvetľuje, že počas intravaskulárnej hemolýzy sú erytrocyty zničené priamo v krvnom obeh. Hemoglobín uvoľnený do krvného obehu je viditeľný - sérum a moč sčervenajú. Naopak, pri extravaskulárnej hemolýze sú erytrocyty likvidované v pečeni, slezine a/alebo kostnej dreni.

Dr. Glanemann dodáva, že intravaskulárna IMHA je často závažnejšia a má horšiu prognózu ako extravaskulárna IMHA.

Prof. Kohn uvádza, že deštrukcia a tvorba nových erytrocytov môžu byť vyvážené. Takéto protrahované, chronické formy sa diagnostikujú ťažšie. Tu je obzvlášť dôležité, aby boli vylúčené iné príčiny anémie (napríklad skryté krvácanie). Pomôcť môže aj Coombsov test.

V tomto bode je zaujímavé poznamenať, že IMHA s protrahovaným priebehom častejšie pozorujeme u mačiek.

U niektorých pacientov s IMHA je okrem anémie zároveň prítomná aj **trombocytopenia**.

Dr. Glanemann vysvetľuje, že o Evansovom syndróme hovoríme vtedy, keď trombocytopenia aj anémia sú spôsobené imunitne sprostredkovanou deštrukciou buniek. Často však dochádza aj k spotrebe trombocytov pri diseminovanej intravaskulárnej koagulácii (DIC), ktorá IMHA sprevádza. Rozlíšenie nie je vždy jednoduché. Platí všeobecné pravidlo, že pri imunitne sprostredkovanej trombocytopenii (IMTP) dochádza k veľmi vysokému úbytku trombocytov, zatiaľ čo trombocytopenia pri DIC je miernejšia. Keďže IMTP zriedkavo prebieha bez dokázateľných protilátok, môže ich stanovenie poukazovať na túto diagnózu.

Prof. Kohn objasňuje, že IMHA môže byť primárna (iný názov: neasociovaná) alebo sekundárna (iný názov: asociovaná). Aby sme zostali pri starých pojmoch, primárna znamená, že sa **nepodarilo nájsť** žiadny možný **spúšťač IMHA**. Sekundárna znamená, že bola zistená možná základná (asociovaná) choroba alebo spúšťač. IMHA môže spustiť v podstate akákoľvek choroba a mnoho vonkajších spúšťačov. V každom prípade je potrebné veľmi starostlivé vyšetrenie vrátane zobrazovacích metód.

Pokiaľ ide o tému **očkovania**, Dr. Glanemann poukazuje na to, že stále neexistujú žiadne konkrétne dôkazy o tom, že očkovanie môže spustiť IMHA. V pomere k vysokému počtu očkovaní sa len veľmi veľmi málo prípadov IMHA dá dať časovo do súvislosti s očkovaním. Prof. Kohn hovorí, že štatisticky je to určite tak. V individuálnych prípadoch sa IMHA vyskytuje v priamej časovej súvislosti s očkovaním, a preto očkovanie mohlo byť možným spúšťačom.

Vzniká teda otázka, ako by sa malo u takýchto pacientov riešiť ďalšie očkovanie. Prof. Kohn odporúča prísne dodržiavať odporúčania Stálej vakcinačnej komisie pre veterinárnu medicínu

(StlKo Vet) a vykonávať len základné očkovania po individuálnom zhodnotení rizika. Ona robí kontroly titrov na parvovírus a psinku a zaočkuje pacienta len vtedy, ak nie je žiadny titer protilátok. Žiaľ, kontrola titra je nespoľahlivá na kontrolu ochrany očkovaním proti leptospiróze, preto sa odporúča každoročné preočkovanie.

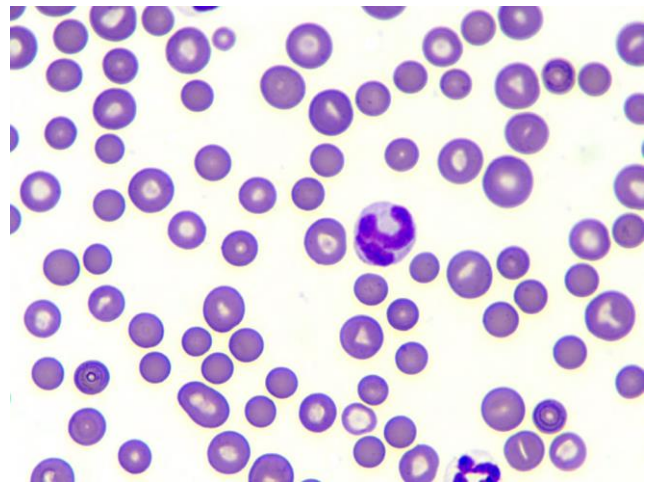
Dr. Baur-Kaufhold podáva prehľad diagnostiky. Po prvé, pozornosť by sa mala venovať známkam možných neimunitných procesov (napr. cibuľa, zinok, pobyt v zahraničí). Zaujímavé môže byť aj plemeno. Deficit pyruvátkinázy bol opísaný u somálskych a habešských mačiek a veľmi zriedkavo u iných plemien mačiek, ako je mainská mývalia a tiež u niektorých plemien psov. Hoci je vrodená, klinicky sa môže prejaviť až neskôr počas života. Na druhej strane existujú plemená psov, ako napr. kokeršpaniel, u ktorých sa zrejme IMHA vyskytuje častejšie. Krvný náter môže identifikovať oxidačné poškodenie erytrocytov (napr. Heinzove telieska).

V každom prípade by sa mali vylúčiť infekčné agensy. Prof. Kohn preto rutinne kontroluje u pacientov s IMHA tieto patogény:

- U **psov** sa vždy testujú anaplazmy a babézie (pomocou PCR - sérológia ukazuje len kontakt a môže byť negatívna aj pri veľmi skorej infekcii). U psov s cestovateľskou/import anamnézou sa robí aj kompletný cestovný profil (protilátky proti *Ehrlichia canis* a *Leishmania infantum*, *Dirofilaria immitis* - antigén a filárie - PCR alebo Knottov test, *Hepatozoon* spp. PCR).

- U **mačiek** sa vyšetrujú: hemotrópne mykoplazmy a piroplazmy (sem patria babézie a *Cytauxzoon* spp.) pomocou PCR, FeLV (vždy vrátane provírus - PCR) a FIV.

**Typické známky IMHA** ďalej vysvetľuje Dr. Baur-Kaufhold: sférocyty (obr. 2) v krvnom nátere (pes), prítomnosť autoaglutinácie a pozitívny Coombsov test. Pri podozrení na neregeneratívnu formu IMHA je potrebné vždy po vylúčení iných možných príčin neregeneratívnej anémie vykonať vyšetrenie kostnej drene.



Obr. 2: Sférocyty

Zdroj obrázka: Laboklin

Ďalej uvádza, že sférocyty vznikajú po čiastočnej fagocytóze makrofágmi. Sférocyty sú menšie ako normálne erytrocyty a nemajú centrálnu prejasnenie. Všeobecne sa uvádza, že nález 5 sférocytov/hpf (high power field) sa považuje za podozrivý. Čím je sférocytov viac, tým pravdepodobnejšia je IMHA. Jednotlivé sférocyty by sa však nemali prehnané interpretovať, pretože k ich tvorbe môžu viesť aj iné ochorenia. U mačiek sa sférocyty bežne nepoužívajú na diagnostické účely, pretože tento druh má prirodzene relatívne malé erytrocyty s malým alebo žiadnym centrálnym prejasnením. **Autoaglutinácia** je často viditeľná v skúmavke ako krv, ktorá sa javí ako vločkováná. Ak aglutinované erytrocyty nie sú zreteľné, mal by sa vykonať sklíčkový test: na tento účel sa 1 kvapka krvi zmieša s 1 - 2 kvapkami NaCl a vyšetruje sa prítomnosť vločiek alebo pod mikroskopom zhluknutých erytrocytov (Obr. 3). Správne sa erytrocyty pred kontrolou autoaglutinácie premyjú, pretože nešpecifické reakcie môžu mať za následok vzhľad podobný aglutinácii.

Prof. Kohn pokračuje **Coombsovým testom**: Coombsov test sa používa na kontrolu imunitných reakcií tela proti vlastným erytrocytom. Za týmto účelom sa vzorka krvi vyšetrí na aglutináciu erytrocytov po pridaní testovacích sér obsahujúcich protilátky. Na vedeckom základe je možné rozlišovať medzi rôznymi zúčastnenými protilátkami.



Obr. 3: Autoaglutinácia

Zdroj obrázka: Dr. Jennifer von Luckner

Pre každodenné praktické použitie postačujú takzvané polyvalentné testy na diagnostiku IMHA. Pozitívny výsledok poukazuje na imunologický proces. Dr. Glanemann poukazuje na to, že sa môžu vyskytnúť falošne negatívne výsledky. Negatívny Coombsov test preto nevylučuje IMHA. Dr. Baur-Kaufhold uvádza, že Coombsov test nemožno vždy vyhodnotiť. Napríklad, ak je prítomná autoaglutinácia erytrocytov, výsledok Coombsovho testu založeného na aglutinácii nie je možné odčítať. Medzi ďalšie dôvody patrí odoslanie nesprávneho materiálu a deštrukcia erytrocytov v starej vzorke krvi, pri nevhodnom skladovaní alebo počas prepravy.

Na otázku, či sa koncentrácia bilirubínu počas IMHA vždy zvyšuje, Dr. Glanemann odpovedá: bilirubín sa uvoľňuje z deštruovaných erytrocytov. Hyperbilirubinémia sa prejaví až vtedy, keď ho pečeň nedokáže rozložiť. Takmer vždy sa vyskytuje pri intravaskulárnej hemolýze. Toto neplatí vždy pri extravaskulárnej hemolýze (najmä pri proťahovaných formách). Závažnosť hyperbilirubinémie je prognosticky relevantná. U mačiek sa IMHA často vyskytuje bez hyperbilirubinémie, najmä u nrlMHA.

Ďalšia časť sa zaoberá terapiou. Dr. Haßdenteufel vysvetľuje, kedy je potrebná transfúzia krvi. Často sa uvádza smerodajná hodnota hematokritu 12 %. Táto hodnota je však

primárne určená ako orientačná. Ak sa anémia rozvinula veľmi rýchlo (zvyčajne pre-regeneratívna), pacient mal málo času zvyknúť si na nízky transport kyslíka. V takýchto prípadoch môže byť potrebné vykonať transfúziu už pri vyššej hodnote hematokritu, zatiaľ čo zvieratá, u ktorých anémia perzistuje dlhší čas, môžu tolerovať aj nižší hematokrit. V každom prípade je dôležité u každého pacienta vyhodnotiť príznaky akútneho nedostatku kyslíka, ako je tachykardia a polypnoe. Ak sú prítomné, je indikovaná transfúzia krvi.

Pokiaľ ide o **xenotransfúziu** u mačiek (transfúzia psej krvi), Dr. Haßdenteufel uvádza, že sa vykonáva v núdzových situáciách, keď nie je možné nájsť vhodného darcu. Mačky ju dobre znášajú a môže byť skutočnou záchranou života. Je však dôležité poznamenať, že erytrocyty psov sú zničené už niekoľko dní po transfúzii. Pomôžu teda len krátkodobo. Navyše, mačka už nikdy nesmie dostať transfúziu krvi od psa, pretože protilátky sa tvoria veľmi rýchlo, čo pri opakovaní transfúzie vedie k fulminantnej transfúznej reakcii. S touto skutočnosťou je nevyhnutné oboznámiť majiteľa!

**Imunosupresívna liečba** sa zvyčajne začína **prednizolónom**. Profesor Bäumer súhlasí s ostatnými odborníkmi, že ide o adekvátny štandard. Pri ťažkých formách, najmä pri intravaskulárnej hemolýze, závažnej hyperbilirubinémii alebo závažnej autoaglutinácii, odborníci radi včas siahnu po druhom imunosupresíve. V téme sú jednotní: Ak hematokrit naďalej klesá do 48 hodín od začiatku liečby a/alebo pacient potrebuje viacnásobné transfúzie, má sa nasadiť **druhé imunosupresívum**. Odporúča sa to aj vtedy, ak sa očakáva, že pacient bude vykazovať závažné vedľajšie účinky prednizolónu a z dlhodobého hľadiska je žiaduce rýchlejšie zníženie glukokortikoidov.

Toto je často prípad veľkých psov s telesnou hmotnosťou > 25 kg alebo plemien mačiek s predispozíciou na diabetes mellitus. Tretie imunosupresívum však už neradi podávajú, pretože to vedie k zvýšenému riziku vedľajších účinkov (vrátane sepsy) s nejasnými prínosom.

Niektorí účastníci chcú vedieť, či sa prednizolón môže použiť skôr, ako budú k dispozícii výsledky pre infekčné patogény. Prof. Kohn radí v prípade pochybností začať s terapiou prednizolónom v imunosupresívnych dávkach. Pri silnom podozrení napr. na infekciu anaplazmami alebo babéziami je potrebné podať doxycyklín resp. imidocarb.

V prípadoch **zlyhania liečby** sa často diskutuje o použití imunoglobulínov. Dr. Glanemann zdôrazňuje, že neexistujú žiadne dôkazy o ich účinnosti pri IMHA. Ak však žiadne iné opatrenie nie je úspešné, je možné pred alebo po splenektómii (ktorá sa považuje pri IMHA za „ultima ratio“) imunoglobulíny vyskúšať.

Súbežne s imunosupresívnou liečbou odporúča ACVIM Consensus Statement liečbu **antikoagulanciami**. Dr. Haßdenteufel potvrdzuje, že pacienti s IMHA majú tendenciu vytvárať tromby, ktoré môžu viesť k poruchám perfúzie. To platí aj v prípade trombocytopenie. ACVIM Consensus Statement špecifikuje dolnú hranicu 30 000 trombocytov/ $\mu$ l pre antitrombotickú liečbu. Deriváty heparínu (nefrakcionovaný a heparín s nízkou molekulovou hmotnosťou) majú prednosť pred klopidogrelom. Liečba heparínom by sa však mala kontrolovať pravidelnými kontrolami koagulácie alebo pomocou stanovenia faktora Xa. Dr. Glanemann upozorňuje, že v praktických podmienkach je to nereálne. Sama má dobré skúsenosti s klopidogrelom. Výhodou klopidogrelu je možnosť perorálneho podávania. Podľa ACVIM Consensus Statement by liečba mala prebiehať počas celého trvania liečby prednizolónom.

Nakoniec je témou **trvanie a monitoring terapie**. Prof. Kohn zdôrazňuje, že terapia by mala trvať niekoľko mesiacov. V prípade recidív môže byť potrebná doživotná liečba. To je časté najmä u mačiek. Dr. Glanemann kontroluje terapiu na základe hematokritu, často v spojení so stanovením počtu retikulocytov. Ak retikulocyty klesnú, zatiaľ čo hematokrit je stabilný alebo stúpa, je to dobré znamenie. Po prekonaní ochorenia a vysadení všetkých liekov je vhodné ešte 4 týždne kontrolovať hematologické hodnoty, aby sa potvrdilo, že

skutočne došlo k remisii. Potom už nie sú potrebné ďalšie vyšetrenia krvi. Miera relapsu u psov s primárnou/neasociovanou IMHA je približne 15 - 20 %.

*Dr. Jennifer von Luckner*