

# Hématologie: nouveautés diagnostiques et thérapeutiques pour les anémies immuno-hémolytiques

Jean-François Lambert<sup>a,c</sup>, Urs E. Nydegger<sup>b,c</sup>

<sup>a</sup> Service d'hématologie, CHUV, Lausanne


<sup>b</sup> Transfusion Therapy Consultancy TTC, Switzerland, Bern

<sup>c</sup> Membres de la Société Suisse d'Hématologie

En ce début du XXI<sup>e</sup> siècle, l'anémie hémolytique auto-immune (AHAI), un classique des chapitres d'hématologie, est en train de profiter des progrès d'analyses de laboratoire et thérapeutiques. C'est ainsi que la cytométrie de flux (CF), la biologie moléculaire et les anticorps (Ac) monoclonaux thérapeutiques rituximab et eculizumab peuvent actuellement améliorer les soins procurés aux malades atteints d'AHAI.

L'AHAI résulte d'une destruction périphérique des globules rouges. La demi-vie des globules rouges se raccourcissant d'environ 100 jours à quelques jours, un dérèglement du système immunitaire de l'hôte se retourne contre les globules rouges, destruction dépendante soit d'Ac, soit du complément (C) induisant une lyse directe des globules rouges ou la phagocytose par les cellules porteuses de récepteurs Fc ou C.

La maladie est rare en pédiatrie, autolimitée, suivant une infection virale. On l'observe fréquemment chez les enfants atteints d'immunodéficience primaire (PID). Touchés le plus souvent, les adultes ont tendance à développer une anémie plus sévère nécessitant un traitement médical.

Différentes formes d'AHAI peuvent être distinguées selon les auto-Ac impliqués, qui peuvent être actifs à la température corporelle ou à une température inférieure (amplitude thermique: 30 °C, 21 °C, ou même 4 °C), respectivement dénommés chaud ou froid (agglutinines froides). La classification clinique est fondée sur la présence ou l'absence d'une pathologie associée (tab. 1  [1].

## Amplitude thermique et type d'hémolyse

Les complexes entre Ac anti-érythrocytaires et Ag présents à la surface des globules rouges sont dépendants de liaisons faibles et sont dépendants de la température d'activité de l'Ac.

La plupart des Ac froids sont de classe IgM et induisent la lyse par le C. Il existe un type d'IgG se comportant de manière similaire, les Ac de Donath-Landsteiner (DL, hémoglobinurie paroxystique froide). Ces Ac apportent le C à la surface des globules rouges à une température <25 °C, puis se détachent. L'hémolyse est alors provoquée par l'activation du C à 37 °C.

Trois types de réactions immunes associées aux médicaments:


- le type haptène est dû à la liaison non covalente de la drogue par les globules rouges alors ciblés par l'Ac d'une manière drogue-dépendante;


- les auto-Ac spécifiques pour le médicament reconnaissent également un auto-Ag à la surface des globules rouges, déclenchant ainsi une hémolyse drogue-indépendante;
- des complexes immuns Ac-médicament pouvant activer le C, induisant ainsi une hémolyse drogue-dépendante non spécifique.

Le médicament le plus fréquemment associé à l'AHAI est la ceftriaxone (Rocephin®) [3]. Une incidence accrue d'AHAI a été notée chez les patients recevant des analogues nucléosidiques de la purine pour des hémothésies malignes. L'oxaliplatine, utilisé pour les cancers colorectaux, peut provoquer, à l'instar du cisplatine, l'adsorption de protéines non immunologiques aux globules rouges et induire la formation d'Ac drogues-dépendants [1].

Un nombre toujours croissant d'Ac monoclonaux sont mis sur le marché. Ils peuvent entraîner, dans de rares cas, des AHAI [4].

Une AHAI après transplantation de cellules souches d'un donneur ABO-incompatible par le passage de lymphocytes du donneur est possible; heureusement, l'hémolyse est généralement transitoire [5].

Derrière les trois grands types d'auto-Ac, soit chaud, froid ou DL, une multitude d'étiologies se trouvent associées, comme indiqué dans la figure 1 .

Les mécanismes d'hémolyse sont différents selon le sous-type d'Ac (fig. 2 ). La spécificité antigénique des Ac chauds demeure le plus souvent inconnue.

Avec les Ac froids, c'est l'activation de la voie du C (C3b) qui entraîne la phagocytose principalement par les cellules de Kupffer (hépatiques). La perforation membranaire par le complexe d'attaque membranaire (CAM) est un mécanisme mineur si le titre d'IgM est faible (fig. 2B).

Le groupe sanguin I/i associé aux groupes ABO et Lewis est impliqué dans la maladie à agglutinine froide. Les agglutinines spécifiques pour i sont polyclonales et observées chez l'enfant à la suite d'infections virales. La spécificité pour I est classique des infections pulmonaires à mycoplasme avec des anticorps polyclonaux, alors que des anticorps monoclonaux anti-I se trouvent associés à des syndromes lymphoprolifératifs [2].

L'hémoglobinurie paroxystique froide associée aux Ac de DL a un comportement biphasique avec fixation «froide» de l'IgG suivie par l'engagement «chaud» du C conduisant essentiellement à une hémolyse par perforation membranaire liée au CAM (fig. 2C). Dans ce cadre, l'antigène P des globules rouges en est la cible.



Jean-François Lambert  
© CHUV-CEMCAV 2008

## Acquisitions nouvelles dans le diagnostic de l'AHAI

La clinique et le laboratoire classique sont résumés dans les tableaux 2 et 3 [↩](#).

Les performances opsonisantes et hémolytiques du C peuvent varier d'un individu à l'autre. En effet, la voie

alterne du C étant engagée comme amplificateur de la formation de C3b peut s'avérer hyperfonctionnelle, comme viennent de le démontrer des chercheurs parisiens [6]. Des mutations dans les gènes de C3 et du facteur B ont été trouvées responsables de favoriser des maladies C-dépendantes, tel le syndrome hémolytique urémique. La découverte de telles mutations chez des patients fortement atteints d'AHAI très active est loin d'être exclue, à moins que la protéine de contrôle C4b-binding-protein et le facteur H ne puissent contrecarrer l'activation du C à la surface de ses globules rouges [7]. L'analyse génétique du C, à l'heure actuelle, n'a pas fait son chemin dans le diagnostic de routine de l'AHAI, mais ceci ne devrait pas tarder.

Il est prudent de corréliser ces tests à la clinique. Le frottis sanguin permet d'observer des microsphérocytes (phagocytose membranaire partielle) et une polychromasie (régénération érythrocytaire). Grâce à la performance des outils diagnostiques actuels, une étiologie secondaire est fréquemment mise en évidence, la forme idiopathique restant un diagnostic d'exclusion.

Le test de Coombs ne permet pas toujours de confirmer la présence d'Ac érythrocytaires [10]. De nouveaux outils diagnostiques sont disponibles. Le dispositif CellAVision® permet de détecter automatiquement les sphérocytes [11]. La détection d'Ac fixés sur les globules rouges peut être effectuée au moyen de la cytométrie de flux (CF). Cette technique met en évidence les Ac fixés à la membrane érythrocytaire et donne des informations indirectes de la nature des IgG, IgA ou IgM et le pourcentage de globules rouges recouverts [12]. Les IgG2 sont moins offensives pour les hématies [13]. Malgré l'absence d'une corrélation significative entre l'intensité de l'agglutination du test de Coombs et les résultats de la CF, une plus grande précision de cette dernière est maintenant reconnue [14]. Celle-ci permet de mesurer la présence physiologique des différentes sous-classes d'IgG [15]. Un nombre moyen de 80000 à 120000 molécules d'IgG1 et environ 40000 molécules d'IgG2a a été détecté par érythrocyte. Cette fixation naturelle d'IgG joue un rôle important dans le transport sanguin des complexes immuns [16].

## Traitement

Le degré de gravité de l'AHAI est variable. La plupart des hémolyses est compensée par une réticulose active, mais l'hémolyse massive reste une urgence vitale. Il arrive dans ces situations que la présence des auto-anticorps ou d'allo-Ac non significatifs réagissent lors des tests de compatibilité. Dans ce cas, la transfusion en urgence avec les proches les moins incompatibles doit primer.

Les glucocorticoïdes sont efficaces pour ralentir le degré d'hémolyse. Il est postulé que la rate ne participe pas seulement à la destruction des globules rouges, mais à la production des auto-Ac. La splénectomie reste indiquée dans les cas dépendant d'un soutien transfusionnel ou nécessitant une corticothérapie de longue durée à dose élevée. Grâce à la disponibilité du Rituximab (anti-CD20), qui cible la production d'Ac en dé-

**Tableau 1. Classification des anémies hémolytiques autoimmunes.**

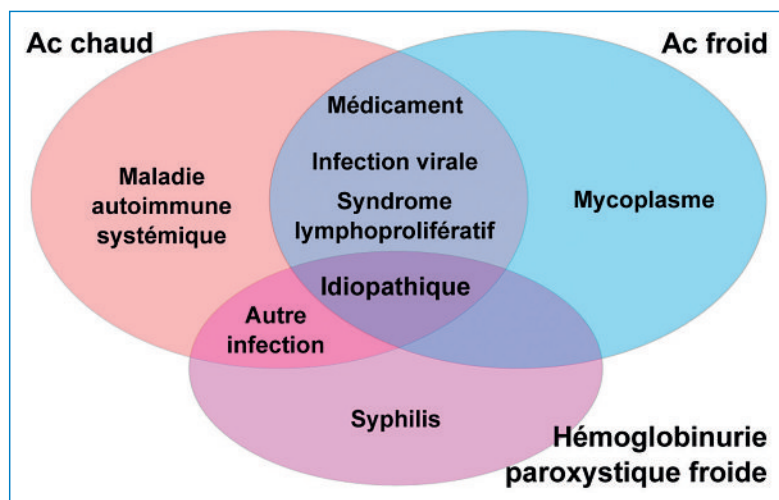
Autoanticorps		Alloanticorps
Primaire	Secondaire	
Idiopathique	Syndrome lymphoprolifératif	Grossesse
	Infections	Posttransfusionnel
	Maladie autoimmune systémique	Posttransplantation de cellules souches ou d'organe solide
	Médicaments	
	Autre	

**Tableau 2. Signes et symptômes d'anémie hémolytique autoimmune.**

	Pourcentage	Condition
Dyspnée	60–70%	dans les cas sévères
Pâleur	100%	Hb <80 g/l
Splénomégalie	20%	mesure par ultrason
Ictère	60%	
Tachycardie	50%	en réponse à l'effort

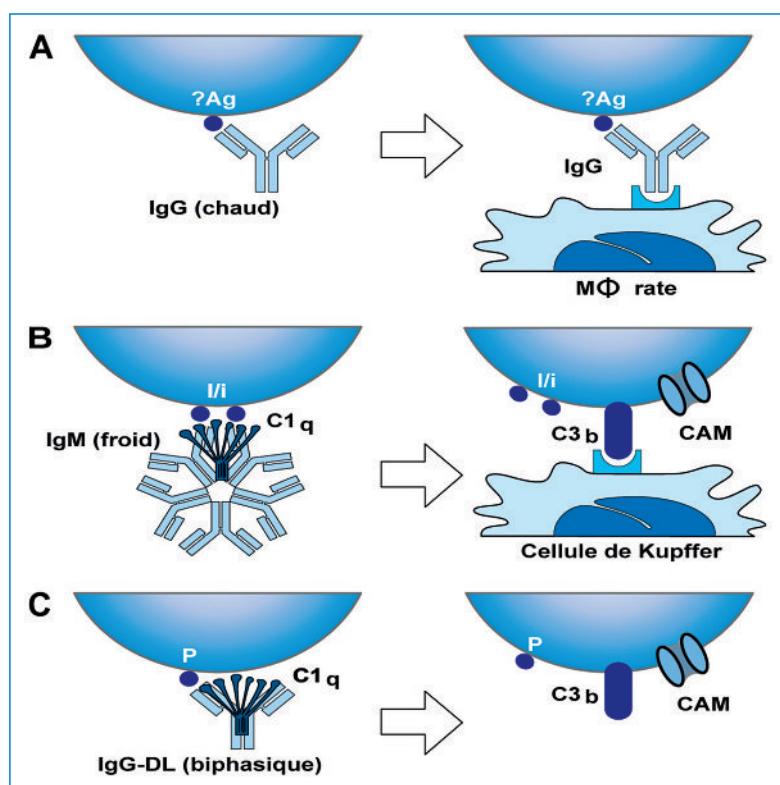
**Tableau 3. Anomalies de laboratoire associées à l'anémie hémolytique autoimmune.**

	Pourcentage	Condition
Hyperbilirubinémie	80%	Élévation de la bilirubine non conjuguée
Élévation des LDH	100%	isoforme 5
Réticulocytose	100%	
Test de Coombs	90% révélé par agglutination	95% révélé par cytométrie de flux



**Figure 1**

La triade d'anticorps impliqués dans l'anémie hémolytique autoimmune. Les anticorps chauds (haut gauche) sont typiques des maladies autoimmunes, les anticorps froids (haut droit) sont typiques des pneumonies à mycoplasmes. Enfin (bas), les infections à *Treponema pallidum* sont compliquées par une hémoglobinurie paroxystique froide. La partie entrelacée (centre) mentionne les étiologies pouvant conduire à tous les types d'anticorps.



**Figure 2**

Bases immunopathologiques de l'hémolyse selon le type d'anticorps

- A Dans l'anémie hémolytique auto-immune (AHA) associée à des autoanticorps IgG réagissant à 37 °C, dits «chauds», l'IgG se fixe aux globules rouges par un auto-antigène membranaire. C'est ainsi qu'un complexe antigène-anticorps, dit «complexe immun» insoluble se forme à la surface du globule rouge. Ensuite, le globule rouge est capté par les macrophages spléniques grâce à une interaction spécifique avec le récepteur Fc.
- B Dans l'AHA à anticorps froids, une IgM se lie aux antigènes érythrocytaires I/i en fixant simultanément le C1q. Lors de l'élévation de la température, l'IgM se détache et le C activé permet l'opsonisation (C3b) et/ou la perforation par le complexe d'attaque membranaire (CAM). Généralement l'hémolyse est médiée par la captation du C3b par le récepteur des macrophages hépatiques (cellules de Kupffer).
- C Dans l'hémoglobinurie paroxystique froide, l'IgG de Donath Landsteiner interagit avec l'antigène P à la surface des globules rouges, permet la fixation du C, puis se détache à température plus élevée. L'hémolyse est alors induite par une activation du complexe d'attaque membranaire (CAM).

truisant spécifiquement les cellules B dans les cas réfractaires aux stéroïdes [17, 18], la splénectomie est réléguée aux cas réfractaires au Rituximab.

L'immunosuppression par le danazol reste une option dans les cas difficiles mais – sujet de forte actualité – l'efficacité d'un Ac monoclonal anti-C5 (eculizumab, Soliris®, Alexion) bloquant l'assemblage du CAM dans le traitement de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) permet d'envisager son utilisation dans les AHAI [19]. L'eculizumab, approuvé pour l'HPN en Suisse depuis l'an dernier, est très cher et non dénué d'effets indésirables (calculs biliaires, myalgies, infections des voies urinaires (cf [www.kompendium.ch](http://www.kompendium.ch)) mais nous pensons que les doses nécessaires pour pallier une hémolyse aiguë d'une AHAI et la durée d'administration seront moins lourdes que pour les patients souffrant d'une HPN.

**Correspondance:**

Dr Jean-François Lambert  
Service d'Hématologie  
CHUV  
CH-1011 Lausanne  
[jean-francois.lambert@chuv.ch](mailto:jean-francois.lambert@chuv.ch)

**Références recommandées**

- Arndt PA, Garratty G. The changing spectrum of drug-induced immune hemolytic anemia. *Semin Hematol.* 2005;42(3):137–44.
- Lin JS, Hao TC, Lyou JY, Chen YJ, Liu HM, Tzeng CH, et al. Clinical application of a flow cytometric direct antiglobulin test. *Transfusion.* 2009;49(7):1335–46.
- Dierickx D, Verhoef G, Van Hoof A, Mineur P, Roest A, Triffet A, et al. Rituximab in auto-immune haemolytic anaemia and immune thrombocytopenic purpura: a Belgian retrospective multicentric study. *J Intern Med.* 2009.

La liste complète et numérotée des références pourra être consultée dans la version en ligne de l'article.

# Anémies immuno-hémolytiques: nouveautés diagnostiques et thérapeutiques 2009

## Neues bei Diagnose und Therapie der immunhämolytische Anämien 2009

### Weiterführende Literatur (Online-Version) / Références complémentaires (online version)

- 1 Arndt P, Garratty G, Isaak E, Bolger M, Lu Q. Positive direct and indirect antiglobulin tests associated with oxaliplatin can be due to drug antibody and/or drug-induced nonimmunologic protein adsorption. *Transfusion* 2009;49(4):711-8.
- 2 Duffy T. Autoimmune hemolytic anemia and paroxysma nocturnal hemoglobinuria. In: Simon TL SB, Strauss, RG, Snyder EL, Stowell C.P. Petrides M, editor. *Rossi's Principles of Transfusion Medicine*. Chichester: Wiley-Blackwell, 2009:321-343.
- 3 Arndt PA, Garratty G. The changing spectrum of drug-induced immune hemolytic anemia. *Semin Hematol* 2005;42(3):137-44.
- 4 Elimelakh M, Dayton V, Park KS, globules rougesuessner AC, Sutherland D, Howe RB, et al. Red cell aplasia and autoimmune hemolytic anemia following immunosuppression with alemtuzumab, mycophenolate, and daclizumab in pancreas transplant recipients. *Haematologica* 2007;92(8):1029-36.
- 5 Stussi G, Halter J, Bucheli E, Valli PV, Seebach L, Gmur J, et al. Prevention of pure red cell aplasia after major or bidirectional ABO blood globules rougesoup incompatible hematopoietic stem cell transplantation by pretransplant reduction of host anti-donor isoagglutinins. *Haematologica* 2009;94(2):239-48.
- 6 Roumenina LT, Jablonski M, Hue C, Blouin J, Dimitrov JD, Dragon-Durey MA, et al. Hyperfunctional C3 convertase leads to complement deposition on endothelial cells and contributes to atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2009;114(13):2837-45.
- 7 Trouw LA, Bengtsson AA, Gelderman KA, Dahlback B, Sturfelt G, Blom AM. C4b-binding protein and factor H compensate for the loss of membrane-bound complement inhibitors to protect apoptotic cells against excessive complement attack. *J Biol Chem* 2007;282(39):28540-8.
- 8 Naithani R, Aglobules rougesawal N, Mahapatra M, Kumar R, Pati HP, Choudhry VP. Autoimmune hemolytic anemia in children. *Pediatr Hematol Oncol* 2007;24(4):309-15.
- 9 Bellia M, Georgopoulos J, Tsevrenis V, Nomikou E, Vgontza N, Kontopoulou-globules rougesiva I. The investigation of the significance of a positive direct antiglobulin test in blood donors. *Immunohematology* 2002;18(3):78-81; discussion 81.
- 10 Sachs UJ, Roder L, Santoso S, Bein G. Does a negative direct antiglobulin test exclude warm autoimmune haemolytic anaemia? A prospective study of 504 cases. *Br J Haematol* 2006;132(5):655-6.
- 11 Ceelie H, Dinkelaar RB, van Gelder W. Examination of peripheral blood films using automated microscopy; evaluation of Diffmaster Octavia and Cellavision DM96. *J Clin Pathol* 2007;60(1):72-9.
- 12 Lin JS, Hao TC, Lyou JY, Chen YJ, Liu HM, Tzeng CH, et al. Clinical application of a flow cytometric direct antiglobulin test. *Transfusion* 2009;49(7):1335-46.
- 13 Stahl D, Sibrowski W. IgG2 containing IgM-IgG immune complexes predominate in normal human plasma, but not in plasma of patients with warm autoimmune haemolytic anaemia. *Eur J Haematol* 2006;77(3):191-202.
- 14 Chaudhary R, Das SS, Gupta R, Khetan D. Application of flow cytometry in detection of red-cell-bound IgG in Coombs-negative AIHA. *Hematology* 2006;11(4):295-300.
- 15 Mazza G, Day MJ, Barker RN, Corato A, Elson CJ. Quantitation of erythrocyte-bound IgG subclass autoantibodies in murine autoimmune haemolytic anaemia. *Autoimmunity* 1996;23(4):245-55.
- 16 Nydegger UE. Immune complex pathophysiology. *Ann N Y anticorpsad Sci* 2007;1109:66-83.
- 17 Dierickx D, Verhoef G, Van Hoof A, Mineur P, Roest A, Triffet A, et al. Rituximab in auto-immune haemolytic anaemia and immune thrombocytopenic purpura: a Belgian retrospective multicentric study. *J Intern Med* 2009.
- 18 D'Arena G, Califano C, Annunziata M, Tartarone A, Capalbo S, Villani O, et al. Rituximab for warm-type idiopathic autoimmune hemolytic anemia: a retrospective study of 11 adult patients. *Eur J Haematol* 2007;79(1):53-8.
- 19 Roth A, Huttman A, Rother RP, Duhrsen U, Philipp T. Long-term efficacy of the complement inhibitor eculizumab in cold agglutinin disease. *Blood* 2009;113(16):3885-6.