

Casuïstiek

Acute auto-immuun hemolytische anemie veroorzaakt door koude-agglutinenen: een bloedklonterend ziektebeeld

D.W. SWINKELS¹ en J.R.M. WENTINK²

Bij 2 patiënten werd de diagnose acute koude-agglutinenen auto-immuun hemolytische anemie (AIHA) gesteld. Bij opname hadden beide patiënten een anemie met hemoglobine-gehaltenes onder de 3 mmol/l en icterus. Bij beide patiënten werd een onderliggend infect vermoed maar niet aangetoond. Het klinisch beloop van beide patiënten verschilde: een patiënt herstelde binnen een week zonder restverschijnselen terwijl de ander een multi-orgaan falen ontwikkelde en overleed.

Het klinisch beeld bij de acute vorm van koude-agglutinenen AIHA is meestal mild met spontaan herstel maar kan in zeldzame gevallen fataal verlopen. Bij klinische aanwijzingen voor een infectie met anemie en icterus is het daarom van belang hemolyse tijdig te herkennen en te differentiëren. Agglutinatie van de erythrocyten in de uitstrijk van het perifere bloed maakt de diagnose waarschijnlijk; de positieve directe antiglobuline-test en de verhoogde koude-agglutinenen titers maken deze definitief. Tijdige behandeling bestaande uit antibiotica en bloedtransfusies is geïndiceerd bij ernstige hemolyse.

Er is sprake van een auto-immuun hemolytische anemie (AIHA) indien er ten gevolge van auto-antistoffen een versnelde afbraak van erythrocyten optreedt. In ongeveer 25 % van de auto-immuun hemolytische anemieën zijn de antistoffen van het zogenaamde koude-type, dat wil zeggen dat ze bij een temperatuur van ongeveer 4 °C optimaal reageren met de erythrocyten (1-3). Deze door koude-antistoffen veroorzaakte AIHA komt niet vaak voor. Dit vormt wellicht de reden dat er onvoldoende aan deze aandoening wordt gedacht, de diagnose onnodig wordt uitgesteld en de prognose van de patiënt nadelig wordt beïnvloed. Aan de hand van twee patiënten willen wij illustreren dat deze vorm van hemolyse niet altijd onschuldig hoeft te verlopen en dat tijdige signalering en differentiëring van de hemolyse van belang zijn voor behandeling en ziektebeloop.

Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium¹ en Afdeling Interne Geneeskunde², Academisch Ziekenhuis St. Radboud Nijmegen.

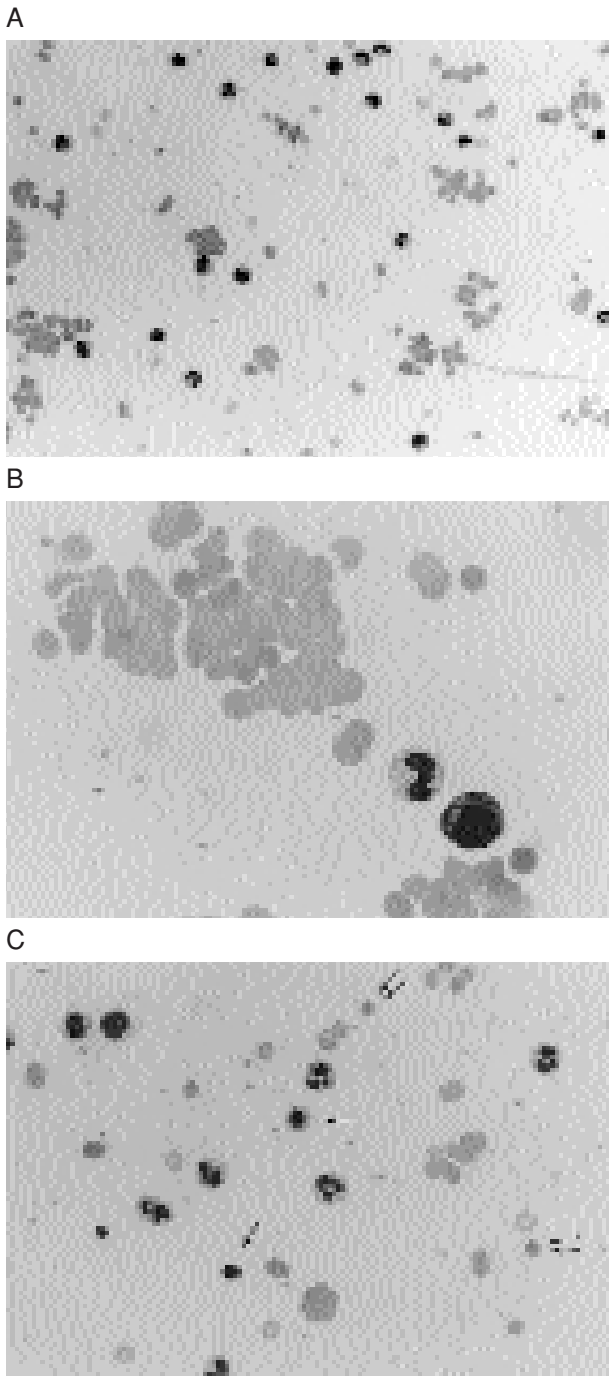
Correspondentie: Mw. Dr. D.W. Swinkels, Academisch Ziekenhuis St. Radboud, Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.
Ingekomen: 01.07.94.

Ziektegeschiedenissen

Patiënt A, een 53-jarige tevoren gezonde man, kreeg een koortsende ziekte met één week later geelzien, donkere urine en buikpijn met diarree. Twee dagen later ontstonden dyspnoe, blauwe acra en uiteindelijk coma, waarop vervoer naar ons ziekenhuis volgde. Bij aankomst bleek patiënt naast comateus, ook anemisch en icterisch. De hemodynamiek was shockerig: bloeddruk RR 110/70 mm Hg, pols 120, temperatuur 36 °C. Behalve een palpabele lever leverde het overige lichamenlijk onderzoek geen aanknopingspunten voor de diagnose op. Patiënt werd direct overgebracht naar de intensive care, ventilatoir en circulatoir ondersteund en breed geëvalueerd naar de mogelijke oorzaak van het lijden. Laboratoriumonderzoek verricht op de EHBO leverde de volgende uitslagen op: Hb-gehalte 3,0 mmol/l, leucocytenaantal $65,3 \times 10^9$ /l, trombocytenaantal 703×10^9 /l. Het hematocriet was met 0,10 l/l laag ten opzichte van het Hb. Er waren ernstige lever- en nierfunctiestoornissen: ALAT 1520 U/l, ASAT 2240 U/l, γ GT 24 U/l, ureum 22,8 mmol/l en kreatinine 193 μ mol/l. De overige laboratorium uitslagen bij opname waren: LDH 13900 U/l, bilirubine direct 64 μ mol/l en totaal 142 μ mol/l. Opvallend hierbij was de sterk bruine kleur van het serum. Er werd echografisch onderzoek van de buik verricht. Dit leverde geen bijzonderheden op.

De werkhypothese bestond op dat moment uit: septische shock, hepatitis of hemolytische anemie. Verdere diagnostiek werd ingezet en patiënt kreeg acht eenheden ongekruste erythrocytenconcentraten waarop het Hb-gehalte van het bloed steeg naar 6,6 mmol/l. In verband met ernstige nierinsufficiëntie werd gestart met continue arterioveneuze hemodialyse. Omdat aan een onderliggend infect werd gedacht werd begonnen met antibiotica gericht op een breed spectrum van mogelijke verwekkers.

Uitstrijk van het perifere bloed gaf belangrijke aanknopingspunten voor de diagnose: agglutinatie van erythrocyten (figuur 1A en 1B), enkele sferocytten per gezichtsveld (figuur 1C), normoblasten (figuur 1C) en polychromatische erythrocyten; het witte bloedbeeld toonde 7% lymfocytten, 6% monocytten, 74 % segmenten met een linksverschuiving met 7% staven, 2% myelocytten en 3% metamyelocytten en toxische korreling. Er leek sprake te zijn van een door koude-agglutinenen veroorzaakte hemolytische anemie met een actieve hematopoïese. In de daarop volgende dagen werd de diagnose van acute koude-agglutinenen auto-immuun hemolytische anemie bevestigd. Met immunoelektroforese werd een verlaging van het



Figuur 1. Uitstrijk perifeer bloed van patiënt A, gekleurd volgens May-Grünwald-Giemsa. A: Agglutinatie van erythrocyten, vergroting 80x; B: Agglutinatie van erythrocyten, vergroting 400x olie-immersie; C: Normoblasten (↑) en sferocyten (↑↑), vergroting 200x.

haptoglobine (kwantitatief $<0,03$ g/l), het hemopexine, en een sterk verhoogd vrij hemoglobine in het serum vastgesteld. Deze bevindingen waren in overeenstemming met het klinische beeld van een ernstige intravasculaire hemolyse. Bepaling van de complementfactoren leverde verlaagde waarden op: totaal complement (CH-50) <20 U/l (normaal 55 ± 10 U/l); C3, 335 mg/l (normaal 750-1250 mg/l); C4, 54 mg/l (normaal 180-400 mg/l) passend bij een verhoogd verbruik bij het auto-immuun proces. De circulerende immuuncomplexen waren licht verhoogd: 6 % (normaal $<5\%$). De aanwezigheid van auto-antistoffen

gericht tegen de eigen erythrocyten werd ondersteund met een directe antiglobuline-test (volgens Coombs), die dubieus was met polyspecifiek serum, positief met anti-complement serum en negatief met anti-IgG serum. De titers van de koude-agglutinenen waren: 32.000 bij 4°C (normaal <64), 4.000 bij kamertemperatuur (normaal 0) en 16 bij 37°C (normaal 0). De antistoffen waren gericht tegen het I-antigeen van de erythrocyt.

Hoewel het klinische beeld en het bloedbeeld wezen in de richting van een onderliggend infect kon dit bij opname niet worden bevestigd met virusserologie en bloedkweken. Ook de polymerase chain reaction (PCR) ingezet voor *M. Pneumoniae* was negatief.

Uiteindelijk werd de diagnose gesteld op acute AIHA, veroorzaakt door koude-antistoffen gericht tegen het I-antigeen van de rode cel.

Patiënt werd de eerste 4 dagen na opname behandeld met matig hoge doses corticosteroïden (eerste dag 50 mg DAF i.v. daarna 25 mg DAF i.v. per dag). Tevens werd de patiënt geplasmafereerd op dag 2 en 3 van opname, waarop de koude-agglutinenen titer bij 4°C daalde van 32.000 naar 1.024 en zo bleef. Klinisch ontwikkelde zich het beeld van een progressief multi-orgaan falen en elf dagen na opname overleed de patiënt.

Bij obductie werd een suspecte bronchopneumonie in de onderkwab van de rechterlong gevonden. De kweken hieruit waren positief voor *E. Coli* en negatief voor *M. Pneumoniae* (evenals PCR). Er waren geen aanwijzingen voor een maligniteit of lymfoproliferatief proces.

Patiënt B betrof een 36-jarige man die in ons ziekenhuis sinds 9 maanden behandeld werd met polychemotherapie na een operatie wegens een osteosaroom van het distale femur rechts. Hij had deze kuren tot dusverre redelijk doorstaan met wel enige myelotoxiciteit (m.n. leucopenieën). Patiënt werd opgenomen voor een geplande chemotherapiekuur. In tegenstelling tot de eerdere probleemloze opnames had patiënt nu sinds twee weken klachten van progressieve moeheid, (sub)febriele temperatuur (max 39°C) met een niet-produktieve hoest, dyspnoe d'effort, bleekheid en palpitations. Sinds een week gebruikte hij co-trimoxazol wegens de koorts. Dit alles leek te wijzen op een luchtweginfect bij een leucopenie en anemie ten gevolge van beenmergdepressie na chemotherapie.

Bij onderzoek zagen wij een sterk anemische, vermoeide man met icterische sclerae, RR 134/70 mm Hg, pols 100 RA, temperatuur 39°C . Lichamelijk onderzoek leverde behoudens het bij auscultatie gehoorde geringe crepiteren basaal achter over de longen en een ejectivesouffle over het hart geen bijzonderheden op. Bij venapunctie agglutineerde het bloed direct in de buis. Gezien de combinatie van anemie en icterus werd er gedacht aan een hemolytische anemie. De volgende laboratoriumbepalingen werden verricht: Hb-gehalte 2,3 mmol/l, Ht 0,11 l/l, leucocytenaantal $13,1 \times 10^9$ /l, trombocytenaantal 429×10^9 /l. Het aantal reticulocyten was sterk toegenomen (118 ‰). Het directe bilirubine was licht verhoogd (6 $\mu\text{mol/l}$) en het totale bilirubine (50 μmol), en daarmee ook het

indirecte bilirubine, waren sterker verhoogd. Het LDH was 1344 U/l (normaal <330 U/l), leverfuncties waren normaal, het kreatinine was met 183 µmol/l verhoogd ten opzichte van eerdere opnames (100 µmol/l), het urinesediment liet geen afwijkingen zien. Het haptoglobine was verlaagd (kwantitatief <0,03 g/l). Het bloeduitstrijkje toonde: 77% segmenten, 10% lymfocyten, 9% monocyt, 1% myelocyten, 3% staafkernige, hypersegmentatie, fragmentocyten, polychromatische erythrocyten en agglutinatie van de erythrocyten. Dit beeld paste bij de klinisch reeds vermoede hemolytische anemie en was aanleiding om een directe Coombs-test in te zetten: deze was positief met polyspecifiek antiglobulineserum, negatief met anti-IgG serum en positief met anti-complement serum. In verband met de agglutinatie van de erythrocyten bij bloedafname en in het uitstrijkje werd gedacht aan koude-agglutinenen als oorzaak van de hemolyse. Dit werd bevestigd middels bepaling van de koude-agglutinenen titer: deze was 16.000 (normaal <64), 32 (normaal 0) en 1 (normaal 0) bij respectievelijk 4 °C, kamertemperatuur en 37 °C. De auto-antistoffen bleken gericht tegen het I-antigeen van de erythrocyt.

Er waren geen aanwijzingen voor de aanwezigheid van een reumatische ziekte (reumafactor < 10 IE/ml). Cryoglobuline was verhoogd aanwezig en omdat het IgM zowel mono- als polykloonal was (voornamelijk van het type κ) leek er sprake te zijn van een type II cryoglobulinemie. Complementfactor C3 was normaal (906 mg/l) maar C4 was verlaagd aanwezig (88 mg/l). Circulerende immuuncomplexen waren licht verhoogd (7%).

Uit al deze bepalingen bleek er sprake te zijn van een koude-agglutinenen auto-immun hemolytische anemie. Hoewel het klinisch beeld aanvankelijk een (respiratoir) infectie deed vermoeden kon met bloedkweken en virusserologie geen oorzaak worden gevonden.

Patiënt werd behandeld met bloedtransfusies (6 eenheden erythrocytenconcentraat), prednison 60 mg gedurende één week, gevolgd door gedurende 10 dagen van 40 mg prednison per dag waarna de dosering in 6 weken geleidelijk werd afgebouwd. De hemolyse nam snel af en reeds binnen één week trad herstel op zonder restverschijnselen.

Beschouwing

Deze twee gepresenteerde patiënten hebben beiden dezelfde aandoening: een acute auto-immun hemolytische anemie op basis van koude-agglutinenen. Dit is een immuun-gemedieerde hemolytische anemie veroorzaakt door koude-auto-antistoffen, auto-antistoffen met een optimumtemperatuur van 4 °C voor de reactie met de erythrocyten. Van een door koude-agglutinenen veroorzaakte hemolytische anemie kunnen een primaire (idiopathische) vorm en een secundaire vorm worden onderscheiden. De secundaire vorm kan chronisch en mild verlopen bij maligne lymfoproliferatieve aandoeningen maar vertoont een acuut, voorbijgaand karakter bij met name virale infecties waaronder die veroorzaakt door het Epstein-Barr virus (mononucleosis infectiosa) en *M. pneumoniae* (4,5).

Bij beide patiënten is er sprake van een acute vorm van koude-agglutinenen AIHA maar kon ondanks klinische aanwijzingen een onderliggend infectie niet worden aangetoond.

Het klinisch beeld van de acute, infectie-gerelateerde, vorm van koude-agglutinenen AIHA is meestal mild met spontaan herstel binnen enkele weken maar kan zelden zoals bij patiënt A ook fataal belopen (6,7). In aansluiting op een klinisch infectie ontstaan symptomen van een acute hemolyse. Door de snelle daling van het haptoglobine ontstaat een progressieve moeheid, bleekheid en palpaties. De patiënt wordt geel en de urine donker door de aanwezigheid van urobilino-gen en/of hemoglobine. De obstructie van de perifere circulatie door de door de koude veroorzaakte agglutinatie kan een acrocyanose of Raynaud fenomeen geven, zoals bij patiënt A. Het klinisch beloop van beide patiënten verschilt. Waarschijnlijk hangt dit samen met de hogere "thermal amplitude" (de hoogste temperatuur waarbij nog agglutinatie detecteerbaar is) van patiënt A; bij 37 °C waren de koude-agglutinine titers 16 en 1 voor respectievelijk patiënt A en patiënt B (8).

Door de ernstige intravasculaire afbraak van de erythrocyten vindt men bij laboratoriumonderzoek van het bloed een laag Hb-gehalte, een verhoogd LDH, een verhoogd totaal en indirect bilirubine en een verlaagd haptoglobine en hemopexine. Het serum heeft een bruine kleur. Het beenmerg tracht de door de hemolyse teweeggebrachte anemie te compenseren middels toename van de hematopoïese.

Koude-agglutinenen binden bij afkoeling aan het oppervlak van de erythrocyten en brengen daarmee agglutinatie teweeg. Deze agglutinatie van de rode cellen in een bloeduitstrijkje (figuur 1A en 1B) of zelfs al in de buis direct na venapunctie vormt een belangrijke aanwijzing voor de diagnose. Deze agglutinatie verstoort ook de elektronische telling van de erythrocyten bij kamertemperatuur en verklaart de discrepantie tussen Hb-gehalte en hematocriet van patiënt A (9).

Koude-antistoffen zijn niet alleen in staat erythrocyten bij afkoeling te agglutineren maar ze ook te hemolyseren door complement binding en activering. Bij ernstige intravasculaire hemolyse wordt het complement snel verbruikt resulterend in verlaagde complement spiegels zoals bij patiënt A.

Door interactie met de macrofaag kan de met immunoglobulinen en/of complement beladen erythrocytenmembraan beschadigd worden en als sferocyt opnieuw de circulatie betreden. Voor een AIHA is enige vorm van sferocytose dan ook kenmerkend (patiënt A). De aan de erythrocyt gebonden auto-antistoffen toont men aan met de directe antiglobuline-test, ook wel Coombs-test genoemd. Wanneer de hemolyse ernstig is zoals bij patiënt A moet men hierbij rekening houden met lage concentraties van met antistof en/of complement beladen erythrocyten, die immers door lysis en fagocytose uit de circulatie zijn verwijderd.

De koude-agglutinenen titer kan bepaald worden en is verhoogd bij de door koude-antistoffen veroorzaakte AIHA. De koude-agglutinenen zijn meestal gericht

tegen het erythrocytaire I-antigeen. Soms zijn het tevens cryoglobulinen, immunoglobulinen die precipiteren in de koude (10-12). Dit zou het geval kunnen zijn bij patiënt B, waarbij sprake was van een zogenaamde gemengde cryoglobulinemie (type II). Bij dit type past ook de combinatie van een verlaagd C4-complement met een normaal C3-complement (13). Indien er naast de koude-antistoffen AIHA tevens klinische aanwijzingen zijn voor een infectie kunnen virusserologie en bloedkweken ingezet worden teneinde het onderliggende agens (met name Epstein-Barr virus en *M. pneumoniae*) op te sporen. Naast antibiotische therapie kan afhankelijk van de ernst van het ziektebeeld de behandeling expectatief zijn, of bestaan uit het opwarmen van de patiënt en het geven van bloedtransfusies (2, 14). Met transfusies moet men terughoudend zijn omdat ook het donorbloed door de patiënt zal worden afgebroken en bovendien de aanwezigheid van auto-antistoffen de detectie van allo-antistoffen bemoeilijkt (14). Vanwege de ernstige hemolyse werden beide patiënten behandeld met prednison en werd patiënt A bovendien geplasmaferieerd. Voor beide behandelingen zijn er echter geen eenduidige aanwijzingen voor een therapeutisch effect (2).

Wij danken W. van de Meer, analist, voor zijn aandeel in de vervaardiging van figuur 1.

Literatuur

- Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Lichtman MA. Haematology. McGraw-Hill Inc, 4th ed, 1990.
- Dacie J. The haemolytic anaemias. Volume 3: The auto-immun haemolytic anaemias. Churchill Ltd, 3rd ed, 1992.
- Petz LD, Garrati G. Acquired immune hemolytic anemias. Churchill Livingstone, New York. 1980.
- Punt K, Verloop MC. Een geval van acute haemolytische anemie bij mononucleosis infectiosa. Ned Tijdschr Geneesk 1955; 99: 3128-3130.
- Murray HW, Masur H, Senterfit LB, Roberts RB. The protean manifestations of Mycoplasma pneumoniae infections in adults. Am J Med 1975; 58: 229-242.
- Seldon W, Isbister JP, Raik E, Biggs JC. A fatal case of cold autoimmune hemolytic anemia. Amer J Clin Pathol 1980; 73: 716-717.
- Rousey SR, Smith RE. A fatal case of low titer anti-PR cold agglutinin disease. Am J Hematol 1990; 35: 286-287.
- Pruzanski W, Shumak KH. Biological activity of cold-reacting autoantibodies. N Engl J Med 1977; 297: 538-542.
- Hattersley PG, Gerard PW, Caggiano V, Nash DR. Erroneous values on the model S Coulter counter due to high titer cold autoagglutinins. Am J Clin Pathol 1971; 55: 442-446.
- Conn, HO. Acute hemolytic anemia, cryoglobulinemia and cold agglutination. N Engl J Med 1955; 253: 1011-1013.
- Poldre P, Pruzanski W, Chiu HM, Dotten DA. Fulminant gangrene in transient cold agglutininemia associated with Escherichia coli infection. Can Med Assoc J 1985; 132: 261-263.
- Invernizzi F, Galli M, Serino G, Monti G, Meroni PL, Granatieri C, Zanussi C. Secondary and essential cryoglobulinemias. Frequency, nosological classification, and long-term follow-up. Acta Haemat 1983; 70: 73-82.
- Frankel AH, Singer DRJ, Winearls CG, Evans DJ, Rees AJ, Pusey CD. Type II essential mixed cryoglobulinemia: presentation, treatment and outcome in 13 patients. Quat J Med 1992; 298: 101-124.
- Rosenfield RE, Jagathambal. Transfusion therapy for auto-immun hemolytic anemia. Seminars Hemat 1976; 13: 311-321.

Summary

Two patients with acute cold-antibody auto-immune haemolytic anaemia. Swinkels DW and Wentink JRM. Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 167-170.

Two patients with acute cold-antibody auto-immune haemolytic anaemia (AIHA) were described. At admission both patients had haemoglobin levels below 3 mmol/l and jaundice. For both patients an underlying infectious disease was suspected but could not be demonstrated. The clinical course differed between patients: whereas one patient fully recovered within one week without any sequelae the other developed a multi-organ failure and died.

The clinical picture of the acute cold-antibody AIHA is usually mild with spontaneous recovery but can in rare cases have a fatal course. Thus, in the presence of clinical signs of an infectious disease, anaemia and jaundice it is vital to recognize and differentiate haemolysis. Agglutination of erythrocytes in the peripheral blood smear points to the diagnosis; the positive direct antiglobulin-test and the enhanced cold-agglutinin titers make it definite. In cases with severe haemolysis treatment, consisting of antibiotics and blood transfusions is indicated.