

**КЛИНИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО
ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ
АУТОИММУННЫХ ГЕМОЛИТИЧЕСКИХ АНЕМИЙ**

Под редакцией академика В.Г.Савченко

Авторы:

Цветаева Н.В.¹, Никулина О.Ф.¹

Экспертный совет:

Лукина Е.А.¹, Кравченко С.К.¹, Иванова В.Л.³, Поспелова Т.И.⁴, Лапин В.А.⁵, Володичева Е.М.⁶, Михайлова Е.А.¹, Сметанина Н.С.², Финогенова Н.А.², Капланов К.Д.⁷, Гундобина О.С.⁷ Голенков А.К.⁸

1. ФГБУ «Гематологический Научный центр» Минздрава России, Москва
2. ФГБУ ФКНЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева МЗ РФ, Москва
3. Гематологический Московский Городской Центр при ГУЗ «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина», Москва
4. ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск
5. ГБУЗ ЯО «Областная клиническая больница», Ярославль
6. ГУЗ ТО Областная клиническая больница г. Тулы
7. ГБУЗ Волгоградский краевой клинический онкологический диспансер №1, Волгоград
8. ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. Н.Ф.Владимирского», Москва

Проект клинических рекомендаций обсужден в октябре 2013г. на заседании Экспертной группы по Редким заболеваниям отделения Орфанных заболеваний ФГБУ ГНЦ МЗ РФ и в феврале 2014 г на заседании Профильной комиссии по специальности «Гематология». Клинические рекомендации утверждены на заседании Профильной комиссии по специальности «Гематология» в ноябре 2014.

Список сокращений

АИГА	Аутоиммунная гемолитическая анемия
МСЦ	Наследственная микросфероцитарная гемолитическая анемия
ГК	глюкокортикоиды
ПНГ	Пароксизмальная ночная гемоглобинурия
МТП	Метилпреднизолон
РТМ	Ритуксимаб
РЭПП	Распределение эритроцитов по плотности
ЛДГ	Лактатдегидрогеназа
ЛПЗ	Лимфопролиферативные заболевания
ПТМ	Пульс-терапия метилпреднизолоном
СТП	Стандартная терапия преднизолоном
CD	кластер дифференцировки
IRF	Незрелая фракция ретикулоцитов

Содержание

1. Методология сбора доказательств.....	5
2. Аутоиммунные гемолитические анемии (АИГА)	8
2.1 Классификация и причины развития	8
2.2 Клинические и лабораторные проявления	9
2.3 Дифференциальный диагноз и обследование	10
2.4 Клинические проблемы и терапия	12
2.5 Новые препараты.....	18
2.6 Оценка эффективности лечения.....	20
2.7 Программа терапии АИГА, разработанная в ФГБУ ГНЦ МЗ.....	22
3. Заключение.....	24
4. Литература.....	25

1. МЕТОДОЛОГИЯ СБОРА ДОКАЗАТЕЛЬСТВ

Методы, использованные для сбора / селекции доказательств:

Поиск публикаций в специализированных периодических печатных изданиях с импакт-фактором > 0.3;

Поиск в электронных базах данных.

Базы данных, использованных для сбора / селекции доказательств:

Доказательной базой для рекомендаций являются публикации, вошедшие в Кохрайновскую библиотеку, базы данных PUBMED и MEDLINE. Глубина поиска составляла 30 лет.

Методы, использованные для анализа доказательств:

- Обзоры опубликованных мета-анализов;
- Систематические обзоры с таблицами доказательств.

Методы, использованные для качества и силы доказательств:

- Консенсус экспертов;
- Оценка значимости доказательств в соответствии с рейтинговой схемой доказательств (табл.1).

Таблица 1.

Рейтинговая схема для оценки силы доказательств

Уровни доказательств	Описание
1++	Мета-анализы высокого качества, систематические обзоры рандомизированных контролируемых исследований (РКИ), или РКИ с очень низким риском систематических ошибок
1+	Качественно проведенные мета-анализы, систематические обзоры или РКИ
1-	Мета-анализы, систематические обзоры или РКИ с высоким риском систематических ошибок
2++	Высококачественные систематические обзоры исследований случай-контроль или когортных исследований с отсутствием или очень низким риском эффектов смешивания или систематических ошибок и высокой вероятностью причинной взаимосвязи
2+	Хорошо проведенные исследования случай-контроль или когортные исследования со средним риском эффектов смешивания или систематических ошибок и средней вероятностью причинной взаимосвязи
2-	Исследования случай-контроль или когортные исследования с высоким риском эффектов смешивания или систематических ошибок и средней вероятностью причинной взаимосвязи
3	Не аналитические исследования (описания случаев, серий случаев)
4	Мнение экспертов

МЕТОДОЛОГИЯ РАЗРАБОТКИ РЕКОМЕНДАЦИЙ

Описание методики анализа доказательств и разработки рекомендаций:

При отборе публикаций, как потенциальных источников доказательств, использованная в каждом исследовании методология изучалась для того, чтобы убедиться в ее соответствии принципам доказательной медицины. Результат изучения влиял на уровень доказательности, присваиваемый публикации, что в свою очередь влияет на силу, вытекающих из нее рекомендаций.

Методологическое изучение фокусировалось на особенностях дизайна исследования, которые оказывали существенное влияние на качество результатов и выводов.

С целью исключения влияния субъективных факторов каждое исследование оценивалось независимо, как минимум двумя независимыми членами авторского коллектива. Различия в оценке обсуждались на совещаниях рабочей группы авторского коллектива данных рекомендаций.

На основании анализа доказательств последовательно были разработаны разделы клинических рекомендаций с оценкой силы в соответствии с рейтинговой схемой рекомендаций (табл.2).

Методы, использованные для формулирования рекомендаций:

- Консенсус экспертов;
- Оценка значимости рекомендаций в соответствии с рейтинговой схемой (табл.2)

Таблица 2.

Рейтинговая схема для оценки силы рекомендаций [13]

Уровни доказательств	Описание
A	Рекомендации основаны: по меньшей мере, на одном мета-анализе, систематическом обзоре или РКИ, оцененных как 1++, напрямую применимых к целевой популяции и демонстрирующих устойчивость результатов или группе доказательств, включающих результаты исследований, оцененных как 1+, напрямую применимых к целевой популяции и демонстрирующих общую устойчивость результатов
B	Рекомендации основаны: на группе доказательств, включающих результаты исследований, оцененных как 2++, напрямую применимых к целевой популяции и демонстрирующих общую устойчивость результатов или экстраполированных доказательств из исследований, оцененных как 1++ или 1+
C	Рекомендации основаны: на группе доказательств, включающих результаты исследований, оцененных как 2+, напрямую применимых к целевой популяции и демонстрирующих общую устойчивость результатов или экстраполированных доказательств из исследований, оцененных как 2++
D	Рекомендации основаны на доказательствах уровня 3 или 4 или экстраполированных доказательств из исследований, оцененных как 2+

Индикаторы доброкачественной клинической практики (Good Practice Points – GPPs):

доброкачественная практика рекомендаций основывается на квалификации и клиническом опыте авторского коллектива.

МЕТОДОЛОГИЯ ВАЛИДИЗАЦИИ РЕКОМЕНДАЦИЙ

Методы валидации рекомендаций:

- Внешняя экспертная оценка;
- Внутренняя экспертная оценка.

Описание методики валидации рекомендаций:

Настоящие рекомендации в предварительной версии были рецензированы независимыми экспертами, которых попросили прокомментировать, насколько качественно интерпретированы доказательства и разработаны рекомендации. Также была проведена экспертная оценка изложения рекомендаций и их доступности для понимания.

Предварительная версия рекомендаций представлялась и обсуждалась на заседании Экспертного Совета по проблемам болезни Гоше и научных конференциях Национального гематологического общества.

Рекомендации обсуждены и одобрены ведущими специалистами профильных Федеральных центров РФ и практическими врачами.

Окончательная редакция:

Для окончательной редакции и контроля качества рекомендации были повторно проанализированы членами авторского коллектива, которые пришли к заключению, что все существенные замечания и комментарии экспертов приняты во внимание, риск систематических ошибок при разработке сведен к минимуму.

Последнее обсуждение и правка проекта клинических рекомендаций была в феврале 2014 г на заседании Профильной комиссии по специальности «Гематология» с утверждением на заседании Профильной комиссии по специальности «Гематология» в ноябре 2014.

2. Аутоиммунные гемолитические анемии (АИГА) — гетерогенная группа

аутоагрессивных заболеваний и синдромов, обусловленных разрушением эритроцитов, которое вызвано неконтролируемой продукцией антител против собственных эритроцитов. АИГА встречаются с частотой от 1:41 000 до 1:80 000 в любых возрастных группах; соотношение женщин и мужчин составляет 2:1. Первые описания АИГА относятся к концу XIX века [1]. W. Dameshek и G. Schwartz (1938) впервые получили экспериментальную иммунную гемолитическую анемию. Важнейшими этапами в изучении АИГА стали разработка R. A. Coombs с соавт. (1945) метода выявления фиксированных на эритроцитах неполных тепловых агглютининов—прямого антиглобулинового теста, названного пробой Кумбса, а также работы J. V. Dacie, прояснившего многие клинические и лабораторные проблемы. В нашей стране внедрению представлений о диагностике, клинике и лечении различных вариантов АИГА в повседневную клиническую практику способствовали исследования И. А. Кассирского, Ю. И. Лорье, Л. И. Идельсона и их последователей.

2.1 Классификация и причины развития АИГА

АИГА разделяют на первичные (идиопатические) и более распространенные вторичные, встречающиеся при других заболеваниях. Вторичные АИГА чаще всего сопряжены с лимфоцитарными опухолями, системной красной волчанкой (СКВ), ревматоидным артритом, а также с неспецифическим язвенным колитом, врожденными иммунодефицитами, раком толстой кишки, легких, желудка и яичников, некоторыми инфекциями. В одних случаях АИГА обнаруживают в ходе длительно текущей болезни, а в других гемолиз предшествует проявлению указанных заболеваний, нередко затрудняя своевременную диагностику.

По механизму разрушения эритроцитов выделяют внутриклеточный, внутрисосудистый и смешанный вариант гемолиза.

Серологические свойства аутоантител легли в основу деления АИГА на четыре формы:

- 1) с неполными тепловыми агглютинами (80% всех больных);
- 2) с полными холодовыми агглютинами (12—15% всех случаев);
- 3) с тепловыми гемолизинами;
- 4) с двухфазными холодовыми гемолизинами Доната—Ландштейнера (крайне редкая и, как правило, вторичная форма при сифилисе и вирусных инфекциях). Тип антител во многом определяет клинические проявления гемолиза, выбор лечения и

прогноз. Данных рекомендации касаются двух первых форм, поскольку за нашу многолетнюю практику гемолизиновые (3- и 4-я формы)

Причина развития АИГА —срыв иммунологической толерантности к собственным антигенам. Механизм этого процесса до сих пор не изучен. Поскольку АИГА редкое заболевание, не исключено, что готовность к подобным нарушениям в какой-то мере

обусловлена теми или иными генетическими дефектами Т-лимфоцитов. Показано, что при АИГА, как и при многих других аутоагрессивных заболеваниях, имеет место подавление супрессорной функции Т-лимфоцитов, что способствует увеличению популяции В-лимфоцитов, образующих антитела против собственных структур. Срыв толерантности происходит, когда она формируется в присутствии малых количеств антигена. Толерантность, развившаяся после контакта с большим количеством антигена, практически не исчезает. В качестве примера обычно приводят отсутствие аутоагрессии против антигенов системы АВ0. Различные формы АИГА могут иметь в своей основе разные ведущие причины. Имеются сведения о выявлении антилимфоцитарных антител и антилимфоцитотоксинов при различных аутоиммунных заболеваниях. При В-клеточных опухолях аутоантитела — продукт опухолевого клона.

Свойства аутоантител определяют особенности различных форм АИГА.

Неполные аутоагглютины вызывают агглютинацию эритроцитов только в водно-солевой среде, в то время как действие полных проявляется в любой среде. Неполные тепловые антитела фиксированы на эритроцитах и взаимодействуют через Fc-фрагменты иммуноглобулинов с Fc-рецепторами макрофагов, из-за чего теряется часть мембраны эритроцита, изменяется ее биофизическое состояние и прежде всего свойства ионных каналов. Это приводит к образованию микросфероцитов и резкому ускорению разрушения (секвестрации) эритроцитов в селезенке, а иногда и в печени. Холодовые агглютинины вызывают транзитное склеивание эритроцитов на холоде, что приводит к фиксации и активации комплемента на их поверхности с последующим повреждением мембраны. Гемолизины активируют комплемент, повреждая мембрану внутри сосудистого русла. При этой форме АИГА инфекционный агент может иметь сходство с антигенными структурами эритроцита или на первом этапе несколько видоизменять их, что в последующем приводит к аутосенсibilизации. Наиболее часто в развитии АИГА принимают участие два класса антител: IgG и IgA или IgG и IgM, а также комплемент, что определяет как

патофизиологию, так и лечение АИГА. IgM антитела активно фиксируют комплемент, при этом, как правило, прямая проба Кумбса отрицательная. У данной категории больных спленэктомия не приводит к прекращению гемолиза, поскольку в разрушении эритроцитов активно участвуют фагоциты печени.

2.2 Клинические и лабораторные проявления АИГА

Основные клинические и лабораторные проявления АИГА — нормоцитарная анемия с быстро нарастающей слабостью и плохой адаптацией даже к умеренному снижению гемоглобина, бледность и желтушность кожи и склер, нередко субфебрильная температура и небольшое увеличение размеров селезенки. Спленомегалия у пациента старше 50—60 лет, как правило, заставляет думать о вторичной АИГА, связанной с лимфопролиферативным заболеванием. При холодовой гематоглобулиновой болезни степень анемии колеблется в широком диапазоне, но, как правило, анемия выражена умеренно и сопровождается симптомами, связанными с феноменом склеивания

эритроцитов, что затрудняет проведение анализа крови. При длительном охлаждении возможно развитие синдрома Рейно, некрозов и бронхоспазма.

Лабораторное обследование выявляет снижение уровня гемоглобина, от умеренного до 26—36 г/л, и соответствующее уменьшение количества эритроцитов при высоком ретикулоцитозе. Число лейкоцитов и тромбоцитов обычно не изменено, но при интенсивном гемолизе возможны лейкоцитоз с омоложением лейкоцитарной формулы, а также тромбоцитоз или тромбоцитопения. В мазке периферической крови, как правило, — сочетание микросфероцитов с крупными ортохромными эритроцитами, но в зависимости от свойств антител могут быть холодная агглютинация и, иногда, шистоциты. Ключевые изменения биохимических показателей крови: гипербилирубинемия (преобладает непрямая, неконъюгированная фракция), повышение активности ЛДГ в сыворотке в 2—8 раз (в зависимости от интенсивности гемолиза).

Информативен практически забытый показатель (предшественник креатинина сыворотки)—повышенный средний уровень креатина эритроцитов, характеризующий степень их омоложения. Прямая проба Кумбса в большинстве случаев - положительная, но при массивном гемолизе, а также при холодных и гемолизиновых формах АИГА, вызванных IgA или IgM- аутоантителами, может быть отрицательной. При гемолизиновых формах АИГА и тяжелом гемолитическом кризе с активацией комплемента обнаруживают повышение свободного гемоглобина плазмы (гемоглобинемия), темный, бурый или вишневый цвет мочи (гемоглобинурия), положительные ауто- и перекрестные тесты Хэма и сахарозный; инкубация эритроцитов больного и донора в плазме и сыворотке больного при 37°С в течение 24—48 ч может привести к их гемолизу (тесты Кросби и Хегглина—Майера). В таких случаях с помощью проточной цитометрии необходимо исключить пароксизмальную ночную гемоглобинурию : ПНГ-клон эритроцитов, нейтрофилов и моноцитов (приобретенный дефект клеточной мембраны, лишаящий ее защиты от мембраноатакующего комплекса комплемента,—определяется по отсутствию экспрессии рецепторов CD59, CD24, CD14, CD66 и CD16, а также по отсутствию фиксирующего их якорного белка в реакции с флюоресцентным аэролизинем [FLAER]). Имеет значение «снижение» гаптоглобина сыворотки. Этот феномен обусловлен тем, что гаптоглобин, уже перенасыщенный гемоглобином из разрушенных эритроцитов, перестает связывать добавленный в пробирку меченый гемоглобин. Изменены биофизические свойства эритроцитов, их деформируемость (пластичность), плотность (фильтруемость) и электрофоретическая подвижность. К сожалению, эти простые тесты, очень информативные для диагностики разных анемий и контроля эффективности лечения, редко входят в арсенал клинических лабораторий.

2.3 Дифференциальный диагноз и обследование

На первых этапах обследования необходимо определить—острая или хроническая форма АИГА у данного больного. Важны анамнестические данные, позволяющие исключить наследственную и вторичную гемолитическую анемию . Дифференциальнодиагностический план обследования:

общий анализ крови, в т. ч. тромбоцитов и ретикулоцитов (не менее трех раз);

биохимический анализ крови, включая:

фракции билирубина;

активность ЛДГ;

активность аминотрансфераз;

общий белок;

свободный гемоглобин плазмы и гаптоглобин;

прямая проба Кумбса;

титр холодных агглютининов;

непрямая проба Кумбса (обязательна при интенсивном гемолизе и предшествующих трансфузиях эритроцитов);

общий анализ мочи (обязательна визуальная оценка цвета мочи);

определение гемосидерина, а также железа, меди и гемоглобина в моче;

пункция костного мозга (гиперплазия и морфология эритроидного ростка, количество и морфология лимфоцитов, комплексы метастатических клеток);

трепанобиопсия (при необходимости);

иммунофенотипирование лимфоцитов (при лимфоцитозе периферической крови и удаленной селезенке);

витамин В12, фолат и гомоцистеин сыворотки;

показатели обмена железа (в том числе трансферрин, ферритин сыворотки и эритроцитов);

развернутая коагулограмма + волчаночный антикоагулянт;

ревматологические пробы (антитела к нативной ДНК, ревматоидный фактор, антинуклеарный фактор, антитела к кардиолипиновому антигену);

иммуноглобулины сыворотки (G, A, M) + криоглобулины;

рентгенография легких (при необходимости КТ);

эзофагогастродуоденоскопия;

ирригоскопия/ректороманоскопия/колоноскопия;

УЗИ органов брюшной полости и внутрибрюшных лимфатических узлов, малого таза, предстательной железы, щитовидной железы;

при необходимости—гормоны щитовидной железы, простатический специфический антиген, онкомаркеры.

Частота ошибок при диагностике АИГА превышает 30% (данные ГНЦ).

Дифференциальный диагноз АИГА проводят с другими заболеваниями, протекающими с элементами гемолиза:

В12дефицитной анемией;

пароксизмальной ночной гемоглобинурией (ПНГ);

наследственной сфероцитарной гемолитической анемией и другими

наследственными гемолитическими анемиями;

тромботической тромбоцитопенической пурпурой;

маршевой гемоглобинурией;

болезнью Вильсона (встречается дебют с гемолитического синдрома);

несовместимыми трансфузиями эритроцитов (в частности, без учета

резусфенотипа);

гетероиммунными гемолитическими анемиями (пенициллины, цефалоспорины, сульфаниламиды, вирусные и некоторые бактериальные инфекции).

2.4 Клинические проблемы и терапия

Тактика лечения АИГА зависит в первую очередь от ее серологической разновидности и остроты гемолитического криза. При лечении

криза первичной и вторичной АИГА принципиальных различий нет.

Наибольшие успехи достигнуты в лечении самой распространенной формы АИГА — с положительной прямой пробой Кумбса, вызванной неполными тепловыми агглютинами. Основное содержание данного раздела касается именно этой формы. Сведения о других, более редких, серологических формах АИГА разрозненны и противоречивы. В то время как перечень используемых лекарственных препаратов не имеет существенных различий, эффективность терапии при АИГА, вызванных

гемолизинами и холодowymi агглютинами, меньше, поэтому эту ин

формацию мы не стали выделять в отдельный раздел.

Глюкокортикоидная терапия

На протяжении полувека независимо от формы АИГА первой линией

Терапии оставались глюкокортикоиды (ГК) (преднизолон и эквивалентные дозы дексаметазона, триамцинолона, метилпреднизолона). При

этом начальная доза преднизолона зависела, как правило, от остроты процесса. Общепринятая начальная доза — 1 мг/кг в сутки (50—80 мг/сут). Увеличение дозы преднизолона до 2 мг/кг/сут (90—160 мг/сут) не улучшает результаты лечения, приводя к быстрому развитию характерных тяжелых осложнений. Первый гемолитический криз, как правило, удается купировать. В течение двух недель прекращается падение гемоглобина, исчезает гипертермия. Через 3—4 недели уровень гемоглобина может достигнуть нормы. Стремление к быстрому уменьшению дозы с момента нормализации гемоглобина из-за побочного действия ГК (кушингоид, стероидные язвы, артериальная гипертензия, угревая сыпь с формированием гнойничков на коже, бактериальные инфекции, сахарный диабет, остеопороз, венозные тромбозы) всегда приводит к рецидиву гемолиза. Снижать дозу преднизолона начинают по 5—10 мг за 2—3 дня и продолжают до тех пор, пока суточная доза не достигнет 25—30 мг. Далее отмена препарата проводится значительно медленнее — по 2,5 мг за 5—7 дней. После достижения дозы ниже 10—15 мг темп отмены должен быть еще больше замедлен. Такая тактика предполагает продолжительность приема преднизолона в течение 3—4 месяцев.

При меньшей продолжительности поддерживающей терапии рецидив гемолиза практически неизбежен. Стойкой ремиссии достигают только у 7—22% пациентов [2]. При большей длительности лечения число клинических ремиссий может увеличиться, но нарастают и нежелательные явления. Повторные курсы ГК нередко дают меньший эффект, в то время как осложнения превращаются в терапевтическую проблему, конкурирующую с самой АИГА. Основной причиной смерти таких больных является не гемолиз, а тромбозы, тромбоэмболии, бактериальные и грибковые инфекции (пневмония, уросепсис, септический эндокардит).

Диагноз рецидивирующей формы АИГА, а точнее резистентности к первой линии терапии, фактически формируется после первого же рецидива гемолиза. При АИГА с холодowymi агглютинами ГК, как правило, малоэффективны, а необъяснимые колебания уровней эритроцитов и гемоглобина, чаще технические, корректируются при 37°C (пример: эритроциты — $0,7 \times 10^{12}/л$, после согревания кюветы — $2,9 \times 10^{12}/л$, что предотвратило необоснованную трансфузию эритроцитов).

В литературе мало сведений о пульстерапии метилпреднизолоном (10—30 мг/кг/сут) или дексаметазоном (40 мг/кг/сут) при АИГА [3, 4], но такой подход используют при СКВ и других коллагенозах. Метилпреднизолон обычно вводят по 1000 мг/сут в течение 2—5 дней (как правило, 3 дней). В мировой практике пульстерапию, как правило, применяют для обрыва гемолиза на первом этапе тяжелой АИГА, а затем возвращаются к обычному пероральному приему ГК, описанному выше. Результаты, полученные в ФБГУ ГНЦ у 28 пациентов (от 18 до 72 лет), показали, что многократные пульсовые трехдневные введения метилпреднизолона значительно увеличивают частоту ремиссий и уменьшают риск осложнений по сравнению со стандартным режимом гормонотерапии (табл. 1 и 2). Кроме того, собственные

наблюдения выявили, что мониторинг таких показателей, как нормализация фракции незрелых ретикулоцитов (IRF — Immature Reticulocyte Fraction), среднего уровня креатина эритроцитах, фильтруемости и распределения эритроцитов по плотности или электрофоретической подвижности, наряду с восстановлением уровней гемоглобина, эритроцитов, ретикулоцитов и активности ЛДГ дает более строгие критерии полной ремиссии. Перечисленные дополнительные показатели активности гемолиза достигали нормы только после 6—8 курсов пульстерапии.

Вторая и третья линии терапии

Спленэктомия

Удаление селезенки в качестве второй линии терапии проводят больным как с идиопатическими, так и с вторичными формами АИГА, которые более 4 месяцев вынуждены принимать преднизолон, а также в случае отсутствия ремиссии в течение 1—2 лет при других видах лечения.

Длительную ремиссию получают более чем в 60% случаев, и лишь остающаяся слабоположительной прямая проба Кумбса не позволяет считать этих больных выздоровевшими. В отличие от АИГА с неполными тепловыми агглютинами, при холодовой гемагглютининовой болезни и гемолизиновых формах АИГА с участием в гемолизе комплемента вероятность безрецидивного течения очень мала. В 20% случаев удается достичь уменьшения тяжести гемолитических кризов и объема медикаментозной терапии.

Определение места преимущественного разрушения эритроцитов, меченных ^{51}Cr или $^{99\text{mTc}}$ Теоксимом, повышает объективность показаний к спленэктомии. Последний метод сопряжен с меньшей лучевой нагрузкой и занимает всего 1—2 дня, что приемлемо в неотложной ситуации.

Спленэктомия, как правило, эффективна при повышенной секвестрации эритроцитов в селезенке и мало перспективна при активной фиксации метки в печени, свойственной холодовым АИГА (рис. 1).

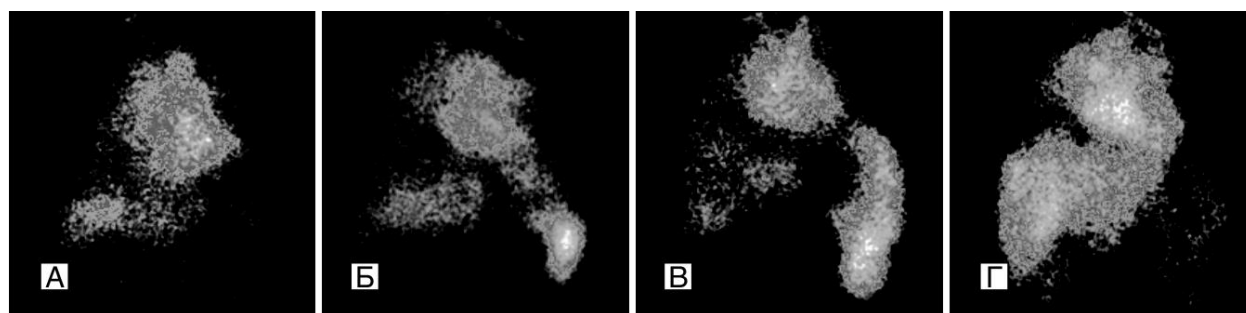


Рисунок 1. Метка аутоэритроцитов $^{99\text{mTc}}$ Теоксимом при различных формах гемолиза для определения места их секвестрации. А. Норма. Б, В. Разрушение эритроцитов в селезенке. Г. Секвестрация эритроцитов в печени.

Табл 1. Результаты терапии метилпреднизолоном больных АИГА.

Результаты лечения метилпреднизолоном	Кол-во больных n=29 (%)	Продолжительность ремиссии (мес)
Первая полная ремиссия	12 (41%)	9 – 96
Частичная ремиссия	15 (51%)	6 – 12
Ответ на терапию	2 (8%)	1 – 2

Показания к спленэктомии

Верифицированный диагноз рецидивов АИГА.

Противопоказания к назначению ГК (сахарный диабет, остеопороз).

Не только лечебная, но и диагностическая цель операции.

Высокая секвестрация эритроцитов в селезенке и отсутствие ее в печени.

Противопоказания к спленэктомии

Выраженная секвестрация эритроцитов в печени.

Длительный прием высоких доз преднизолона к моменту принятия решения.

Инфекционные осложнения.

Высокий тромбогенный риск (комплекс неблагоприятных полиморфизмов генов системы свертывания, антифосфолипидный синдром, возраст более 60 лет, тромбоэмболии в анамнезе, мерцательная аритмия).

Комплексная соматическая патология.

Предоперационная подготовка при острых формах АИГА требует заместительных трансфузий отмытых эритроцитов. При титре прямой пробы Кумбса более 1:4 всегда надо проводить индивидуальный подбор донорской крови. Вопреки бытующему мнению, заместительные трансфузии эритроцитов, как правило, не сопровождаются осложнениями, если это не холодовая АИГА.

В послеоперационном периоде частым осложнением является аспленический тромбоцитоз, достигающий максимума к 6—21-му дню ($500—1800 \times 10^9/\text{л}$). Персистирующий тромбоцитоз отмечается у всех пациентов с сохраняющейся анемией и зависит ($P < 0,001$) от ее тяжести [5].

Последствия тромбоцитоза — тромбозы портальной системы и собственных вен печени, мест установки венозных катетеров, вен нижних конечностей и тромбоэмболии легочной артерии. Эти осложнения ожидаемы при высоком тромбогенном риске.

Факторы риска тромбозов:

продолжающийся гемолиз;

пожилой возраст;

Показания к спленэктомии

Верифицированный диагноз рецидивов АИГА.

Противопоказания к назначению ГК (сахарный диабет, остеопороз).

Не только лечебная, но и диагностическая цель операции.

Высокая секвестрация эритроцитов в селезенке и отсутствие ее в печени.

Противопоказания к спленэктомии

Выраженная секвестрация эритроцитов в печени.

Длительный прием высоких доз преднизолона к моменту принятия решения.

Инфекционные осложнения.

Высокий тромбогенный риск (комплекс неблагоприятных полиморфизмов генов системы свертывания, антифосфолипидный синдром, возраст более 60 лет, тромбоэмболии в анамнезе, мерцательная аритмия).

Комплексная соматическая патология.

Предоперационная подготовка при острых формах АИГА требует заместительных трансфузий отмытых эритроцитов. При титре прямой пробы Кумбса более 1:4 всегда надо проводить индивидуальный подбор донорской крови. Вопреки бытующему мнению, заместительные трансфузии эритроцитов, как правило, не сопровождаются осложнениями, если это не холодовая АИГА.

В послеоперационном периоде частым осложнением является аспленический тромбоцитоз, достигающий максимума к 6—21-му дню ($500—1800 \times 10^9/\text{л}$). Персистирующий тромбоцитоз отмечается у всех пациентов с сохраняющейся анемией и зависит ($P < 0,001$) от ее тяжести [5].

Последствия тромбоцитоза — тромбозы портальной системы и собственных вен печени, мест установки венозных катетеров, вен нижних конечностей и тромбоэмболии легочной артерии. Эти осложнения ожидаемы при высоком тромбогенном риске.

Факторы риска тромбозов:

продолжающийся гемолиз;

пожилой возраст;

острые инфекции с лейкоцитозом;

маркеры антифосфолипидного синдрома;

неблагоприятные полиморфизмы генов системы свертывания крови

(протромбина, ингибитора активатора плазминогена, фактора V Лейден, фибриногена, метилентетрагидрофолатредуктазы и др.).

При гипертромбоцитозе в раннем послеоперационном периоде назначают как дезагреганты (Тромбо АСС, 100 мг в сутки, и/или клопидогрел, начиная со 150—300 мг в сутки в течение 3 дней, затем 37,5—75 мг в сутки), так и профилактические дозы низкомолекулярных гепаринов.

Длительная субфебрильная температура, не реагирующая на антибиотики, - частый спутник нераспознанного венозного тромбоза. При диагностике тромбоза портальной системы (доплерография сосудов брюшной полости) или другого венозного тромбоза рекомендуется круглосуточное введение гепарина со скоростью 1000 ед/ч (24 000 ед/сут) инфузوماتом, под контролем коагулограммы и более информативных, но пока малораспространенных функциональных тестов: тромбозластограммы и скорости роста сгустка. При сохраняющейся гиперкоагуляции доза гепарина может быть повышена до 1500—1800 ед/ч. Введение непрерывное, в течение 3—4 недель. При рассасывании тромбов (контрольная доплерография сосудов портальной системы) осуществляют переход на низкомолекулярный гепарин (например, надропарин, 0,6—1,2 мл/сут, или эноксапарин, 40—160 мг/сут), а в дальнейшем на варфарин, 5 мг в день, под контролем МНО. Сведений о профилактической роли пероральных аналогов низкомолекулярных гепаринов пока не представлено.

При тяжелой анемии, слишком длительной терапии преднизолоном и у пожилых пациентов в послеоперационном периоде нередко возникает ателектаз левого легкого с последующей нижнедолевой пневмонией.

Для исключения поддиафрагмальной гематомы или абсцесса используют УЗИ.

В последние годы, с внедрением эндоскопической хирургии, неэффективность脾эктомии, обусловленная присутствием добавочной селезенки, стала редкостью. Тем не менее, необходимо всегда оценивать лабораторные артефакты, свойственные периферической крови: тельца Жолли, фрагментированные эритроциты и мелкие дефекты на их мембране, ядродержащие клетки красного ряда, сидероциты.

Иммуносупрессивная терапия

Иммунодепрессанты и цитостатические препараты назначают пациентам пожилого возраста (первая или вторая линия терапии) и пациентам с рецидивирующими АИГА в качестве третьей линии терапии. Частота ответа составляет 17—50%, но в нашей

клинике мы не получали таких результатов. Как правило, применяют циклофосфамид, азатиоприн, меркаптопурин или тиогуанин, редко — при холодовой АИГА —

винкристин и хлорамбуцил. На начальном этапе лечения рецидива гемолиза возможно их сочетание с ГК, которые постепенно отменяют в течение 2—4 недель. Оптимальные режимы и длительность терапии не определены.

Циклофосфамид обычно назначают в дозе 400 мг в день или через день. Есть единичные сообщения об успешном использовании высоких доз этого препарата (10 мг/кг/сут в течение 10 дней или 50 мг/кг/сут в течение 4 дней): ремиссия была продолжительной и длилась 4—29 мес [6]. Мы не имеем аналогичного собственного опыта.

Азатиоприн назначают при уменьшении степени анемии в дозе 1—2,5 мг/сут на длительный период (4—6 мес). Поддерживающая терапия (25 мг через день) в последующем может продолжаться от 4 месяцев до 5—6 лет, однако, по нашему опыту, этот препарат приходится отменять из-за нарушения функции печени.

Внутривенный иммуноглобулин и плазмаферезы оказывают умеренный и

очень короткий эффект и не являются самостоятельными методами терапии АИГА. Внутривенный иммуноглобулин вводят в дозе 0,4—2 г/кг в сутки в течение 3—5 дней. Продолжительность ответа составляет 10—4 дней, редко более 3 недель и в большинстве случаев вряд ли оправдывает стоимость данного вида терапии. Показанием к такой терапии может быть только тяжелая инфекция или ее профилактика у детей. Проведение плазмаферезов наиболее принято при холодовой гемоглобулиновой болезни, однако полностью ликвидировать симптомы болезни не удается никогда, а уменьшение титра холодовых агглютининов сохраняется не дольше месяца. Во время процедуры необходимо постоянно подогревать

извлеченную кровь, чтобы избежать агглютинации эритроцитов. У таких больных наряду с противоэритроцитарными выявляются активные антилимфоцитарные аутоантитела, направленные против Т-лимфоцитов. Иногда, плазмаферез сочетают с лимфоцитаферезом.

2.5 Новые препараты

Циклоспорин (Сандиммун Неорал) может приводить к развитию ремиссий у ранее резистентных больных [7—9]. Однако число описанных случаев невелико—около десяти. Препарат назначали либо в виде монотерапии, либо в сочетании с преднизолоном или даназолом, при этом начальные дозы существенно различались. При низкой поддерживающей дозе циклоспорина в течение длительного времени выраженные побочные явления отсутствовали. Emilia с соавт. лечили трех пациентов, начиная с 5 мг/кг/сут в 2 приема. Через 6 дней дозу циклоспорина снизили до

3 мг/кг/сут, далее поддерживали в крови концентрацию 200—400 нг/мл.

Литературные данные свидетельствуют о возможности длительных ремиссий (1—2 года) у ранее резистентных больных, в том числе при вторичных и гемолизиновых

формах АИГА, а также синдроме Фишера—Эванса. Требуется продолжительная поддерживающая терапия. Однако же были и неудачи.

Даназол в практике лечения АИГА так и не нашел широкого применения. Этот препарат назначали на длительный период в дозе 200 мг/сут с последующим ее увеличением до 400 мг/сут и более при хорошей переносимости. Часто это была не монотерапия. Несмотря на то, что сообщалось о достижении ремиссии продолжительностью до 5 лет у резистентных больных с идиопатической формой АИГА в 77% случаев и с вторичной формой АИГА—в 60% случаев [10], даназол мало используют в лечении АИГА. За последние 10 лет были единичные публикации [11]. Тем не менее, интерес к препарату пока полностью не утрачен.

Ритуксимаб (Мабтера) — рекомбинантные моноклональные антитела к кластерам дифференцировки зрелых В-лимфоцитов (антиCD20)—стали использовать в лечении сначала резистентных вторичных, а затем идиопатических АИГА, только в последние 5—10 лет. Частота ремиссий достигает 55—80%, причем они отмечаются не только при АИГА с тепловыми агглютинами, но и при холодowych формах АИГА. (D) Первоначальный режим терапии—375 мг/м² 1 раз в неделю в течение 4 недель. Однако ремиссию удается получить после двух введений (1й и 8й дни курса),

как это доказано в исследованиях ФГБУ ГНЦ МЗ (табл. 2).

В последнее время возросло разнообразие режимов лечения по кратности и дозам.

Так, в 2010 году (Penalver F. e.a.) лечение ритуксимабом (375 мг/м²- № 4) 36 больных с резистентной формой АИГА завершилось у 22 из них (61 %) полной ремиссией (1-86 мес) и частичной, более 1 года у остальных. Спленэктомированные больные показали лучший ответ, чем неспленэктомированные. Лечение Ритуксимабом показало хороший ответ как у больных с тепловыми антителами АИГА, так и с холодowymi. В то же время Barsellini W. С соавт.(1012) применили ритуксимаб у 23 больных в дозе 100 мг, сохранив кратность введения. Ответ сохранялся у 90% больных через 6-12 мес.

Результативность лечения в разрозненных исследованиях стала поводом к двум многоцентровым рандомизированным клиническим исследованиям, которые еще не завершены, в том числе, двойному-слепому, плацебо-контролируемому, 3 фазы, продолжительностью 3 года.

В экспериментах и клинической практике, в том числе нашей собственной, было показано, что число В-лимфоцитов CD20+, CD19+ в периферической крови уже после первого введения препарата резко снижается и нередко они вообще перестают определяться. Восстановление начинается через 4—6 месяцев, возвращение к норме происходит через 9—12 месяцев после завершения терапии, что не всегда совпадает с рецидивом гемолиза.

Табл 2. Результаты терапии Ритуксимабом больных АИГА.

Результаты лечения АИГА Ритуксимабом	Кол-во больных (n=26)	Продолжительность ремиссии (мес)
Первая полная ремиссия	17 (68%)	9 – 87
Частичная ремиссия	8 (28%)	6 – 79
Повторная ремиссия	7 (37%)	12 - 18

Некоторые положительные стороны действия ритуксимаба при аутоагрессивных заболеваниях начинают проявляться только сейчас, по мере накопления длительных и моноцентровых клинических наблюдений (число больных—более 1000) (С, D). Преимущество терапии ритуксимабом заключается в возможности прекращения поддерживающего лечения.

Значимых осложнений при введении препарата не наблюдали. Кроме того, у взрослых пациентов не отмечалось увеличения частоты инфекционных осложнений, хотя описаны единичные случаи тяжелых обострений вирусных гепатитов В и С. Нетяжелые бактериальные инфекции возникали только у 16% наших пациентов и всегда купировались назначением антибиотиков, а у детей, согласно мировой практике, ведением иммуноглобулина.

Надо помнить, что ритуксимаб проникает через плаценту и в полной мере воздействует на В-лимфоциты плода.

В период беременности акушерами разрешены, помимо преднизолона, только два иммунодепрессанта — азатиоприн и циклоспорин.

2.6 Оценка эффективности лечения

Правильная и своевременная диагностика АИГА с неполными тепловыми агглютинами обеспечивает адекватную тактику лечения и восстановление гематологических показателей через 3—5 недель. Признаки улучшения состояния больного, уменьшение «анемических» жалоб наблюдаются в течение первой недели лечения, повышение уровня гемоглобина — только через 7—10 дней. Адекватность терапии можно оценить по нормализации уровней гемоглобина, ретикулоцитов, билирубина, активности ЛДГ. Кроме того, после стабилизации показателей гемограммы желательнее выбрать для мониторинга один или несколько дополнительных показателей активности гемолиза: фракцию незрелых ретикулоцитов (IRF) (при наличии клинического анализатора), средний уровень креатина эритроцитов, а также показатели биофизических свойств эритроцитов — деформируемости, фильтруемости, электрофоретической подвижности. В процессе лечения контрольные исследования гемограммы и биохимических показателей проводят не реже 3 раз в месяц, после достижения ремиссии — каждые 1,5—2 месяца.

Критерии ответа

Критерии ремиссии: полное восстановление показателей гемограммы (гемоглобин > 120 г/л, ретикулоциты < 20%), уровня непрямого билирубина и активности ЛДГ продолжительностью не менее 2 месяцев.

Критерии частичной ремиссии: гемоглобин > 100 г/л, ретикулоциты менее двух норм, уровень непрямого билирубина 25 мкмоль/л и ниже продолжительностью не менее 2 месяцев.

Отсутствие ответа на терапию констатируют при незначительной положительной динамике или ответе продолжительностью менее 1 месяца.

При достижении клинической ремиссии полный клинический анализ крови необходимо делать ежемесячно; определение уровня билирубина, активности ЛДГ, мониторинг фильтруемости и деформируемости, креатина эритроцитов и/или иммуноферментное определение количества иммуноглобулинов на мембране эритроцитов — каждые 2 месяца; прямую пробу Кумбса — каждые 3—6 месяцев.

Ошибки и необоснованные назначения

Гипердиагностика АИГА при отрицательной пробе Кумбса, когда диагноз устанавливают только по высокому содержанию иммуноглобулинов на поверхности эритроцита, выявленному иммуноферментным методом (при инфекциях и механическом гемолизе тест может быть положительным).

Назначение преднизолона при гемолитической анемии с недоказанной аутоиммунной природой. Наиболее часто эта ошибка встречается при ПНГ и В12дефицитной анемии.

Проведение пробного курса до начала обследования больного, неадекватно низкие дозы и длительная бесконтрольная терапия преднизолоном и иммунодепрессантами.

Упорное лечение преднизолоном более 4—6 месяцев при отсутствии ремиссии.

Отсутствие контроля за числом тромбоцитов и учета тромбогенного риска (в том числе генетических факторов тромбофилии) после脾эктомии.

Необоснованное назначение при холодовых формах АИГА ГК и脾эктомии, которые редко оказываются эффективными.

Недооценка возможности возникновения при ремиссии АИГА другой распространенной анемии (например, железодефицитной или В12дефицитной).

2.7 Программа терапии АИГА, разработанная в ФГБУ ГНЦ МЗ

В ГНЦ в течение многих лет существовала клиникалабораторная группа, обеспечивающая дифференциальную диагностику гемолитических анемий. Был не только накоплен опыт верификации диагноза АИГА, но и разработаны новые программы контроля активности гемолиза и лечения больных с резистентными формами АИГА, вызванными тепловыми агглютинидами. Расширение спектра лабораторных исследований, используемых для оценки результата лечения, открыло возможность выявлять предвестники рецидива АИГА и проводить предупредительную терапию, не допуская гемолитического криза. Такой подход восстанавливает качество жизни больных и обеспечивает их социальную адаптацию.

Алгоритм ведения больных с острыми и резистентными формами АИГА

Первая линия терапии впервые выявленной АИГА, в том числе с острым течением, или повторного гемолитического криза — пульс-терапия метилпреднизолоном.

Выбор дозы препарата (5—10 мг/кг) определяется остротой развития гемолиза, степенью анемии, наличием сопутствующей патологии (гипертоническая болезнь II степени, сахарный диабет, инфекционные осложнения), возрастом, а также осложнениями ранее проводимой глюкокортикоидной терапии.

Метилпреднизолон вводят в дозе 500 мг (редко 1000 мг) внутривенно капельно (1,5—2 ч) в течение 3 дней, иногда 4—5 дней. В начале лечения проводят два курса пульс-терапии с интервалом 5—7 дней, не допуская усиления гемолиза.

Эффект первых двух курсов определяет дальнейшую тактику лечения.

1. При подавлении гемолиза проводят еще 4—6 аналогичных курсов.

В отсутствие признаков возобновления гемолиза перерыв между последующими курсами последовательно увеличивают до 2, 3 и 4 недель.

2. При некупируемом гемолизе после двух начальных курсов метилпреднизолона ставят вопрос о проведении спленэктомии с учетом прогноза ее эффективности или другой альтернативной терапии.

У больных с сопутствующими заболеваниями — сахарным диабетом,

артериальной гипертонией — показана коррекция дозы сахароснижающих, гипотензивных препаратов. В качестве сопроводительной терапии показано применение препаратов калия (Аспаркам, Панангин, по 1—2 таблетке 3 раза в день), H₂блокаторов; при повышении уровня мочевой кислоты назначают аллопуринол, 100—200 мг в сутки.

Одно из наиболее распространенных и серьезных осложнений после проведения спленэктомии — аспленический тромбоцитоз. Поэтому в зависимости от степени риска тромбозов проводится профилактика дезагрегантами и/или низкомолекулярными гепаринами, как указано выше. При тромбоцитозе более $1500 \times 10^9/\text{л}$ возможно назначение гидроксимочевины, 1000—1500 мг/сут, под контролем гемограммы 2 раза в неделю.

При резистентности к спленэктомии или альтернативной терапии показана терапия ритуксимабом (Мабтерой).

Показания для назначения ритуксимаба:

резистентные формы АИГА с нарастающим количеством различных осложнений;

неперспективность спленэктомии — выявление повышенного печеночного индекса секвестрации эритроцитов (рис. 1, Г);

пожилой возраст с высокой степенью риска осложнений первой и второй линий терапии.

Противопоказания к назначению ритуксимаба:

непереносимость препарата;

активный гепатит В и С;

острая вирусная или бактериальная инфекция.

Обоснование курсовой дозы ритуксимаба

В основе лежит общепринятый четырехнедельный курс ритуксимаба с разовой дозой 375 мг/м² в 1, 8, 15 и 22й дни. До начала курса и на 7—8-й день курса проточной цитофлюориметрией определяют количество В-лф CD20+, CD19+ в периферической крови. При снижении этого процента до уровня менее 1% на 7—8й день терапии курс ограничивают двумя введениями препарата. Если процент В-лф CD20+, CD19+, снизившись от исходного уровня, все же остается более

1%, курс лечения включает все четыре введения ритуксимаба.

Основанием для повторного курса ритуксимаба являются доклинические признаки рецидива гемолиза, определяемые по динамике стандартных лабораторных показателей — гемоглобина, эритроцитов, ретикулоцитов, ЛДГ, билирубина, а также по результатам принятых в ГНЦ более чувствительных методов мониторинга — распределению эритроцитов по плотности, их деформируемости, фракции незрелых ретикулоцитов (IRF) и/или среднему уровню креатина эритроцитов, количеству иммуноглобулинов на мембране эритроцитов.

Если после проведения пульстерапии, спленэктомии или иммуносупрессивной терапии достигнута ремиссия, показана длительная поддерживающая терапия вплоть до подтверждения ремиссии дополнительными методами контроля гемолиза (прием Плаквенила, 200—400 мг в сутки, не менее 6 месяцев).

После достижения эффекта терапии ритуксимабом все ранее резистентные больные АИГА не требовали какой-либо поддерживающей терапии. При возникновении угрозы рецидива АИГА повторное введение ритуксимаба всегда

оказывалось эффективным и нередко давало более продолжительный ответ, чем при первом курсе.

3 Заключение

Разработанная в ГНЦ программа лечения АИГА, вероятно, в дальнейшем претерпит определенные изменения и может оспариваться. Но на данном этапе очевидны ее преимущества по сравнению с ранее используемыми стандартами, которые сохраняют свое значение в клинической практике.

Представленная модифицированная первая линия терапии АИГА в виде пульс-терапии метилпреднизолоном обладает следующими преимуществами:

данный режим лечения не уступает по эффективности стандартной терапии (41% полных ремиссий против 7-10%);

уменьшается частота осложнений, свойственных глюкокортикоидной терапии;

оперативность решения об изменении тактики терапии в отсутствие эффекта от 2—3 курсов пульс-терапии.

Необходимо продолжить накопление положительного опыта применения ритуксимаба в качестве терапии второго/третьего ряда у больных с резистентными формами АИГА, учитывая перспективность полученных результатов.

Ритуксимаб отличают:

достижение полных ремиссий без поддерживающей терапии при резистентных АИГА;

хорошая переносимость;

отсутствие иммуногенности;

возможность получения отсроченного эффекта через 2—3 месяца;

воспроизводимая эффективность — повторные курсы так же успешны, как первый;

повторный эффект может быть более длительным;

возможная альтернатива спленэктомии у пожилых;

перспектива стать новым стандартом лечения холодových АИГА;

отсутствие увеличения частоты бактериальных и герпесвирусных инфекций у взрослых.

Таким образом, ритуксимаб занял уже свою нишу в лечении резистентных форм АИГА и холодových АИГА. При АИГА с холодowymi антителами, возможно, это будет препарат первого ряда.

Мониторинг активности гемолиза дает, во-первых, уверенность в достижении ремиссии, во-вторых, возможность распознать приближение рецидива и прервать

начинающийся гемолиз. В итоге тактика ведения больных в ремиссии меняется — появилась возможность не догонять, а предупреждать развитие гемолитических кризов, сохраняя и возвращая качество жизни пациентов.

4 Литература

1. Pirofsky B. The hemolytic anaemias – historical review and classification // Pirofsky B, ed. Autoimmunisation and the Autoimmune Hemolytic Anaemias. — Baltimore, MD: Williams & Wilkins, 1969; p. 3–20.
2. Руководство по гематологии. Под ред. Воробьева АИ. — М.: Ньюдиамед, 2005.
3. Ozsoylu S. High dose intravenous methylprednisolone (HIVMP) in gematologic disorders. Hematol Rev 1990; 4:197–207.
4. Meyer O, Stahl D, Beckhove P et al. Pulsed highdose dexamethasone in chronic autoimmune haemolytic anaemia of warm type. Br J Haematol 1997; 98:860–862.
5. Hersh J, Dacie JV. Persistent postsplenectomy thrombocytosis and thromboembolism: a consequence of continuing anaemia. Br J Haematol 1966; 12:44–53.
6. Moyo VM, Smith D, Brodsky I et al. Highdose cyclophosphamide for refractory autoimmune hemolytic anemia. Blood 2002; 100:704–706.
7. Emilia G, Messori C, Longo G, Bertesi M. Longterm salvage treatment by cyclosporin in refractory autoimmune haematological disorders. Br J Haematol 1996; 93:341–344.
8. Dündar S, Ozdemir O, Ozcebe O. Cyclosporin in steroidresistant autoimmune haemolytic anaemia. Acta Haematol 1991; 86:200–202.
9. Rackoff WR, Manno CS. Treatment of refractory Evans syndrome with alternateday cyclosporine and prednisolone. Am J Pediatr Hematol Oncol 1994; 16:156–159.
10. Ahn YS. Efficacy of danazol in hematologic disorders. Acta Haematol 1990; 84:122–129.
11. Pignon JM, Poirson E, Rochant H. Danazol in autoimmune haemolytic anaemia.

Br J Haematol 1993; 83:343–345.

12. Penalver F., Alvares-Larran A., Ann. Hematol 2010. 89(11): 1073.

13. Barsellini W., Zaja F., Zaninoni A., Blood 1012. 119(16): 3691.

14. Zhang X, Sun J. Low dose of rituximab in the treatment of elderly AIHA.
Zhonghua Xue YeXue Za Zhi, 2014, Mar, 35 (3) 236-8.