



Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica

Gruppo di Lavoro Patologia del Globulo Rosso
Coordinatori: Silverio Perrotta - Giovanna Russo

Raccomandazioni per la gestione del bambino con Anemia Emolitica Autoimmune

Coordinatore

Saverio Ladogana¹

Revisori interni

Saverio Ladogana¹, Matteo Maruzzi¹, Giovanna Russo², Wilma Barcellini³, Alberto Zanella³

Date delle riunioni preliminari

14 Ottobre 2011

24-25 Gennaio 2012

27 Marzo 2012

3 Ottobre 2012

Date delle Consensus Conference

27 Novembre 2012

12 Marzo 2013

Partecipanti alla Consensus Conference

Wilma Barcellini (Milano), Carlo Baronci (Roma), Maddalena Casale (Napoli), Tommaso Casini (Firenze), Giovanni Cazzaniga (Monza), Andrea Ciliberti (San Giovanni Rotondo), Serelina Coluzzi (Roma), Paola Corti (Monza), Gian Carlo Del Vecchio (Bari), Domenico De Mattia (Bari), Elena Facchini (Bologna), Piero Farruggia (Palermo), Silvia Fasoli (Mantova), Gabriella Girelli (Roma), Fiorina Giona (Roma), Paola Giordano (Bari), Saverio Ladogana (San Giovanni Rotondo), Giuseppe Lassandro (Bari), Iaria Lazzareschi (Roma), Matteo Maruzzi (San Giovanni Rotondo), Maurizio Miano (Genova), Agostino Nocerino (Udine), Lucia Dora Notarangelo (Brescia), Silverio Perrotta (Napoli), Angela Maria Petrone (Rovereto-Trento), Giovanna Russo, (Catania), Piera Samperi (Catania), Paola Saracco (Torino), Antonella Sau (Pescara), Raffaella Schirò (Milano), Manuela Tumino (Padova), Isabella Vasta (Lecce), Federico Verzegnassi (Trieste), Alberto Zanella (Milano)

Ringraziamenti: Si ringraziano Fabio Pellegrini, Massimiliano Copetti, Andrea Fontana (U.O. di Biostatistica dell'Ospedale Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni Rotondo) per le analisi statistiche.

Indice

Capitolo	Estensori del documento preliminare	Pag.
1. Come il documento è stato prodotto	S. Ladogana ¹	4
2. Criteri diagnostici, epidemiologia, classificazione, forme cliniche primitive	S. Ladogana ¹ , M. Maruzzi ¹ , A. Ciliberti ¹ , S. Perrotta ⁴ , M. Casale ⁴ , B. Nobili ⁴	6
3. AEA post infettiva	F. Verzegnassi ⁵	18
4. Vaccinazioni in pazienti con AEA	S. Perrotta ⁴ , M. Casale ⁴ , I. Vasta ⁶ , G.C. Del Vecchio ⁷ , P. Giordano ⁷ , D. De Mattia ⁷	20
5. Diagnosi di laboratorio	W. Barcellini ³ , A. Zanella ³ , G. Girelli ⁸ , S. Coluzzi ⁸ , N. Masera ⁹ , V. Leoni ⁹ , P. Perseghin ¹⁰ , G. Cazzaniga ¹⁰ , I. Lazzareschi ¹¹ , D. Peruccio ¹² , R. Schirò ¹³	26
6. Terapia trasfusionale	G. Girelli ⁸ , S. Coluzzi ⁸ , A. Zanella ³ , W. Barcellini ³ , P. Perseghin ¹⁰ , G. Cazzaniga ¹⁰ , D. Peruccio ¹²	33
7. Plasma exchange	N. Masera ⁹ , P. Perseghin ¹⁰ , G. Cazzaniga ¹⁰ , W. Barcellini ³ , A. Zanella ³ , S. Coluzzi ⁸ , G. Girelli ⁸	35
8. Terapia di prima linea dell'AEA da anticorpi caldi	G. Russo ² , P. Samperi ² , G. C. Del Vecchio ⁷ , P. Giordano ⁷ , S. Fasoli ¹⁴	36
9. Terapia di seconda e successiva linea della AEA da anticorpi caldi	S. Perrotta ⁴ , M. Casale ⁴ , W. Barcellini ³ , A. Zanella ³ , P. Farruggia ¹⁵ , F. Giona ¹⁶ , M. Miano ¹⁷ , F. Tucci ¹⁸ , T. Casini ¹⁸ , A. Nocerino ¹⁹ , G. Russo ² , S. Ladogana ¹	43
10. Terapia della AEA da anticorpi freddi	P. Samperi ² , G. Russo ²	55
11. Terapia della emoglobinuria parossistica a frigore	S. Ladogana ¹ , M. Maruzzi ¹ , A. Ciliberti ¹	57
12. Terapia della AEA mista	S. Ladogana ¹ , M. Maruzzi ¹ , A. Ciliberti ¹	59
13. Il trapianto di cellule staminali emopoietiche	M. Zecca ²⁰ , F. Rossi ²¹	60
14. AEA associata a malattie autoimmuni	M. Miano ¹⁷	69
15. Sindrome di Evans	E. Facchini ²² , A. Petrone ²³	72
16. AEA nelle immunodeficienze primitive	L.D. Notarangelo ²⁴	76

17. AEA post trapianto di cellule staminali emopoietiche	M. Tumino ²⁵	82
18. AEA e gravidanza, AEA neonatale	A.M. Casadei ²⁶ , P. Corti ⁹ , D. Peruccio ¹² , M. Mensa ²⁷ , B. Pollio ²⁸	88
19. Follow up del bambino con AEA	P. Farruggia ¹⁵ , C. Baronci ²¹ , P. Saracco ²⁹ , A. Sau ³⁰ , F. Tucci ¹⁸ , T. Casini ¹⁸ , A. Nocerino ¹⁹ , S. Ladogana ¹	96

Affiliazioni

1. Unita' Operativa di Oncoematologia Pediatrica. Ospedale "Casa Sollievo della Sofferenza" , IRCCS, San Giovanni Rotondo
2. Centro di Riferimento di Ematologia ed Oncologia Pediatrica, Universita' di Catania
3. Ematologia 2, Fondazione Ca' Granda, IRCCS, Ospedale Maggiore, Milano
4. Dipartimento della Donna, del Bambino e di Chirurgia Generale e Specialistica, Seconda Universita' di Napoli
5. UO di Pediatria, Ospedale Burlo Garofalo, Trieste
6. UO di Oncoematologia Pediatrica, Ospedale Vito Fazi, Lecce
7. UO di Pediatria "F.Vecchio", Azienda Ospedaliero-Universitaria, Policlinico, Bari
8. Centro Trasfusionale, Policlinico Umberto I, Universita' La Sapienza, Roma
9. UO di Pediatria, Ospedale San Gerardo, Monza
10. Centro Trasfusionale, Ospedale San Gerardo, Monza
11. Pediatria, Policlinico A. Gemelli, Roma
12. Immunoematologia, OIRM Sant'Anna, Torino
13. Ematologia Pediatrica, Ospedale Buzzi, ICP; Milano
14. UO di Pediatria, Ospedale, Mantova
15. UO di Oncoematologia Pediatrica, Ospedale, Palermo
16. Ematologia, Policlinico Umberto I, Universita' La Sapienza, Roma
17. UO di Oncoematologia Pediatrica, Istituto Gaslini, Genova
18. UO di Oncoematologia Pediatrica, Ospedale Meyer, Firenze
19. Clinica Pediatrica, Azienda Ospedaliero-Universitaria, Udine
20. UO di Oncoematologia Pediatrica, IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia
21. UO di Oncoematologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma
22. UO Pediatria, Oncologia ed Ematologia pediatrica, Policlinico S. Orsola, Bologna
23. APSS Trento, Pediatria Rovereto
24. UO di Oncoematologia Pediatrica, Spedali Civili, Brescia
25. Clinica di Onco-Ematologia Pediatrica, Universita' di Padova
26. Dipartimento di Pediatria e Neuropsichiatria Infantile, Policlinico Umberto I, Universita' "La Sapienza", Roma
27. UO di Ginecologia, Torino
28. UO di Ematologia, Torino
29. Dipartimento di Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza, Universita' di Torino
30. UO di Ematologia, Ospedale Civile, Pescara

1. COME IL DOCUMENTO È STATO PRODOTTO

Selezione dell'argomento

L'argomento "Raccomandazioni per la gestione del bambino con Anemia Emolitica Autoimmune (AEA)" è stato proposto al Gruppo di Lavoro (GdL) "Patologia del globulo rosso" dell'Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatrica (AIEOP) durante una riunione del GdL stesso tenutasi a Napoli il 22 Febbraio 2008.

Il GdL, dopo aver riconosciuto la rilevanza clinica del tema e la opportunità di stilare un documento, ha dato inizio al progetto assegnandone il coordinamento al Dr. Saverio Ladogana.

L'iniziativa è stata presentata a tutti i centri AIEOP con relativo invito ad aderire al progetto e ad alcuni tra i massimi esperti italiani del settore.

E' stato quindi costituito un gruppo di studio che comprende ematologi pediatri di 20 Centri AIEOP e di altri 3 Centri pediatrici, medici di 4 Laboratori Specialistici/Centri di Medicina Trasfusionale di riferimento, 3 specialisti di neonatologia, ginecologia ed ematologia.

Finalità

L'obiettivo del progetto è quello di preparare un **documento fruibile sul sito AIEOP rivolto agli operatori sanitari** coinvolti nella gestione del bambino con AEA e ai genitori/pazienti contenente informazioni utili e condivise.

Il documento cerca di fornire informazioni chiare e dettagliate sui vari aspetti della gestione clinica dell'AEA. Lo sforzo del gruppo è stato quello di affrontare le varie esigenze cliniche, cercando le risposte nelle evidenze fornite dalla letteratura e formulando raccomandazioni votate dal panel di esperti del Gruppo di Studio per dare forza alle stesse.

Il documento prodotto è da considerarsi uno strumento che potrà aiutare gli operatori sanitari nel prendere decisioni sulla gestione del bambino affetto da AEA, tuttavia esso non va inteso come un insieme di regole inflessibili da seguire.

La decisione finale riguardante la gestione del singolo paziente dovrà essere presa dal medico curante alla luce dei dati clinici del caso e degli strumenti diagnostici e terapeutici disponibili.

Metodologia

Il gruppo di studio ha individuato i vari argomenti da trattare ed ognuno di questi è stato sviluppato da un gruppo di lavoro specifico.

Tutti gli argomenti trattati sono stati di seguito raggruppati in tre grandi macroaree per rendere più omogeneo l'intero progetto di studio.

Ogni gruppo di lavoro ha preparato una bozza preliminare di uno o più argomenti. Per la preparazione dei singoli capitoli, la metodologia seguita è stata la seguente:

1. **Raccolta dei dati esistenti in letteratura** ed attribuzione del pertinente grado di evidenza scientifica a ciascuna voce bibliografica, secondo la seguente scala:

I Studio clinico controllato e randomizzato

II Studio clinico controllato non randomizzato

III Studio non randomizzato con controlli concorrenti

IV Studio non randomizzato con controlli storici

V Studio non controllato

E' stata inoltre aggiunta, ove possibile, una A per gli studi condotti su adulti, una P per quelli condotti su pazienti pediatrici.

2. Sono stati preparati i **diversi capitoli** contenenti una **parte descrittiva**, in cui è riassunto lo stato delle conoscenze, e una **parte delle raccomandazioni**, formulata in enunciati derivati sia dalla letteratura scientifica che dall'esperienza clinica, validati in sede plenaria.

3. Tutte le parti dell'intero documento sono state lette, riviste, discusse e corrette dall'intero Gruppo di Studio nei corsi di **riunioni** tenutesi presso la Clinica Pediatrica della II Università di Napoli il 14 Ottobre 2011 e presso il Centro Congressi dell'Humana, a Milano, il 24 e 25 Gennaio 2012, il 27 Marzo 2012 e il 3 Ottobre 2012.

4. Due **Consensus Conferences** sono state effettuate, presso il Centro Congressi dell'Humana, a Milano i giorni 27 Novembre 2012 e 12 Marzo 2013.

Tutti i partecipanti alle Consensus Conferences hanno espresso la loro opinione su ogni enunciato. Ciascuna opinione è stata quantificata in una scala da 1 a 9, dove 1 rappresenta la non appropriatezza dell'enunciato, mentre 9 la massima appropriatezza.

Per ciascun enunciato, è stato calcolato il valore medio della votazione: una media compresa **tra 1 e 3 è indicativa di provvedimento non appropriato** (azione non necessaria), una media compresa **tra 3.01 e 6.99 è indicativa di provvedimento di appropriatezza incerta**, una media compresa **tra 7 e 9 è indicativa di provvedimento appropriato**, fortemente raccomandato.

E' stato inoltre valutato il livello di accordo (agreement) tra i partecipanti rispetto ad ogni singolo enunciato, quale ulteriore forza della raccomandazione, valutando la distribuzione delle deviazioni standards (DS) all'interno di ciascun enunciato e suddividendo quindi il livello di accordo in 4 categorie :

A: Accordo forte (variazione più di 1 DS al di sotto della media delle varianze, in scala logaritmica)

B: Accordo moderato (variazione meno di 1 DS al di sotto della media delle varianze, in scala logaritmica)

C: Disaccordo moderato (variazione meno di 1 DS al di sopra della media delle varianze, in scala logaritmica)

D: Disaccordo forte (variazione più di 1 DS al di sopra della media delle varianze, in scala logaritmica)

Le opinioni medie di alcuni enunciati sono state comparate tra loro e statisticamente valutate mediante il test non parametrico dei ranghi segnati di Wilcoxon. Un p-value al di sotto della soglia 0.05 è indicativo di significatività statistica.

2. CRITERI DIAGNOSTICI, EPIDEMIOLOGIA, CLASSIFICAZIONE, FORME CLINICHE PRIMITIVE

Introduzione

L'Anemia Emolitica Autoimmune (AEA) è una condizione morbosa rara in età pediatrica caratterizzata dalla presenza di autoanticorpi eritrocitari diretti contro antigeni di superficie dei globuli rossi con conseguente riduzione della vita media delle emazie (1).

Lo stato anemico che si manifesta può essere di entità lieve, media o grave con compromissione delle condizioni generali del bambino. L'anemia è configurata da una riduzione dei valori dell'emoglobina al di sotto di 2 deviazioni standard rispetto ai valori normali per età e sesso (tab. I).

Criterio diagnostico, unitamente all'**anemia** e al riscontro di **autoanticorpi**, è la presenza di **segni laboratoristici di emolisi** quali reticolociti $> 120000/\text{mm}^3$, aptoglobina $<10 \text{ mg/dl}$, bilirubina indiretta $>1 \text{ mg/dl}$, aumento di LDH (>2 volte il limite superiore del range di normalità)

Tabella I. Valori di riferimento dell'emoglobina per età

Età	Valori Medi (g/dl)	Valori Minimi (- 2DS) (g/dl)
Nascita	16.5	13.5
1-3 giorni	18.5	14.5
7 giorni	17.5	13.5
15 giorni	16.5	12.5
1 mese	14.0	10.0
2 mesi	11.5	9.0
3-6 mesi	11.5	9.5
7 mesi-2 anni	12.0	10.5
2-6 anni	12.5	11.5
6-12 anni	13.5	11.5
12-18 anni Maschi	14.5	13.0
12-18 anni Femmine	14.0	12.0

Tratto da Dalman PR: Pediatrics 16th ed. Rudolph A (ed.), New York, Appleton Century Crofts, 1977, p.1111)

Epidemiologia

La prevalenza dell'AEA nei bambini non è ancora ben nota, verosimilmente aumenta con l'incremento dell'età, come per le altre patologie autoimmuni. L'incidenza annuale generale viene stimata essere 1-3 casi/100000 persone e circa 0,2 casi per milione di individui al di sotto dei 20 anni; è segnalata inoltre una maggiore incidenza nei primi 2-4 anni di età e una estrema rarità nei primi 6 mesi di vita (2,3). L'AEA rappresenta la causa principale di emolisi

acquisita da causa extraglobulare in età pediatrica oltre ad essere la seconda più frequente citopenia autoimmune, dopo la piastrinopenia (1).

Classificazione clinica

L'AEA può essere suddivisa in primitiva quando rappresenta l'unico evento clinico e non vi è riscontro di altre condizioni morbose, e secondaria dove l'AEA rappresenta una manifestazione di una patologia più complessa, per lo più di natura immunologica, infettiva, neoplastica o in corso di emopatie specie se trasfusione dipendenti. L'AEA può inoltre verificarsi in seguito ad assunzione di farmaci o in conseguenza di una vaccinazione, può infine complicare il decorso e il follow up di un trapianto di cellule staminali emopoietiche (1) (tab. II).

Tabella II. Classificazione clinica delle AEA in base alla presenza di una eventuale patologia associata

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">• AEA PRIMITIVA
• AEA SECONDARIE<ul style="list-style-type: none">- Infezioni- Vaccinazioni- Piastrinopenia (sindrome di Evans)- Malattie autoimmuni- Immunodeficienze Primitive- Farmaci- Emopatie- Neoplasie- Trapianto di Cellule Staminali Emopoietiche |
|--|

Classificazione immuno-ematologica

Una ulteriore classificazione può essere effettuata in base alle **proprietà termiche dell'anticorpo** che causa l'emolisi; tale distinzione riconosce le forme da autoanticorpi caldi nelle quali gli anticorpi si legano agli eritrociti a una temperatura di 34-37°C, quelle da anticorpi freddi con optimum di azione a 4°C e con un ampio range termico, una particolare forma, l'emoglobinuria parossistica a frigore, legata ad un autoanticorpo IgG bitermico e le forme miste nelle quali si riscontrano sia anticorpi caldi che freddi.

Le AEA, inoltre, si distinguono in base **alla classe immunoglobulinica dell'autoanticorpo** in forme sostenute **da IgG, IgM e miste**. Le forme da IgG sono per lo più le più calde: le IgG sono autoanticorpi incompleti, in grado di fissare poco il complemento, responsabili di emolisi extravascolare soprattutto splenica attraverso il meccanismo della ADCC, antibody dependent cellular cytotoxicity; le IgG possono però essere anche emolisine bifasiche in quanto reagenti con le emazie a basse temperature ma capaci di lisarle esclusivamente a 34-37°C, responsabili dell'emoglobinuria parossistica a frigore. Gli autoanticorpi di classe IgM sono anticorpi pentamerici con elevata avidità e capacità di fissare il complemento, responsabili di emolisi principalmente intravascolare, e secondariamente, extravascolare; le IgM sono autoanticorpi "freddi", con un optimum termico di azione tra 4 e 27°C e un'ampiezza

termica fino a 34-37°C e da un punto di vista clinico il range termico è spesso più importante del titolo anticorpale stesso. Nelle forme miste sono riscontrabili sia autoanticorpi eritrocitari IgG caldi che IgM freddi (tab. III).

Tabella III. Caratteristiche delle varie forme classificate in base agli autoanticorpi eritrocitari

Forma clinica	Incidenza	DAT	Classe Ig	Optimum termico (°C)	Avidità e capacità di fissare il complemento	Specificità antigenica	Sede emolisi
Anticorpi caldi	60-70%	IgG+ o IgG+/C3d+	IgG	34-37	-/+	Rh	Extravasale
Anticorpi freddi	20-25%	Neg. o C3d+	IgM	4-27	+++	Anti - i	Extra ed intravasale
Emoglobinuria parossistica a frigore	6-12%	Neg o C3d+	IgG bifasica	fissaz. 4-27 lisi 34-37	+++	Anti P	Intravasale
AEA Mista	< 5%	IgG+ o IgG+/C3d+ o C3d+	IgG/IgM	IgG 34-37 IgM 4-27	++	Anti Rh Anti-i	Extra ed intravasale

AEA da anticorpi caldi di tipo IgG

Sono certamente le più numerose e rappresentano il 60-70% circa delle AEA infantili. Tendono ad essere più frequenti nei primi anni di età, senza una particolare prevalenza di sesso. Il test di agglutinazione, DAT (direct agglutination test), noto anche come test di Coombs è classicamente positivo per le IgG o per le IgG+C3d, rare sono le forme con un DAT positivo solo per il C3d e in questi casi gli studi sierologici evidenziano pressoché costantemente autoanticorpi IgG. Ancora più raro in questo tipo di AEA il riscontro di un DAT negativo, anche in questi casi è necessario il supporto di tecniche di laboratorio più sofisticate per individuare l'autoanticorpo (v. cap. 5) (2,4).

L'AEA da anticorpi caldi di tipo IgG è la forma classica di AEA con il tipico corredo sintomatologico e laboratoristico; tali anticorpi si riscontrano anche in alcune forme di AEA secondaria a patologie immunologiche, a vaccinazioni, ad assunzione di farmaci.

AEA da anticorpi freddi di tipo IgM

E' più rara in età pediatrica, ammontando a circa il 20-25% delle AEA e ancor più rara nei primi anni di vita. E' mediata da anticorpi freddi di tipo IgM che si legano alle emazie con optimum termico tra 4 e 27°C. Fondamentale per la diagnosi è la positività del test diretto dell'antiglobulina usando anti C3 e la contemporanea negatività usando anti IgG. Il DAT può anche essere negativo, in questi casi è importante la determinazione sierologica anticorpale e l'ampiezza termica dello stesso. A basse temperature i pazienti affetti possono presentare fenomeni di acrocianosi legata all'agglutinazione delle emazie e i reperti clinici sono tanto più gravi quanto più le crioagglutinine sono attive a temperature più elevate. Le AEA da autoanticorpi freddi idiopatiche sono poco frequenti in età pediatrica prevalendo le forme

morbose di natura secondaria a patologia infettiva o neoplastica, queste ultime soprattutto di tipo ematologico (4).

Emoglobinuria parossistica a frigore

E' oggi riconosciuta come causa relativamente frequente di AEA in età pediatrica. Pur incidendo mediamente nel 6-12% dei bambini con AEA, l'esecuzione del test di Donath Landstainer (DL), che è diagnostico per tale tipo di AEA laddove sia presente anche emoglobinuria, ne evidenzia la positività in una percentuale decisamente superiore, fino al 30% circa delle AEA (5-8). L'emolisina di DL, detta anche bifasica, è un autoanticorpo IgG che fissa il complemento a basse temperature e causa emolisi a 37°. Nel range di temperatura fra 4° e 37° l'anticorpo può dissociarsi dall'emazia con conseguente negatività del DAT (raramente positivo per anti C3d), test che risulta invece positivo se eseguito a basse temperature.

E' possibile quindi che molti pazienti con chiara anemia emolitica, emoglobinuria e DAT negativo o, più raramente, positivo per C3d, siano emoglobinurie parossistiche a frigore non diagnosticate. E' da sottolineare che il **riscontro di emolisina bifasica è transitorio e fugace** ed è determinabile solo durante la crisi emolitica per cui, nei casi sospetti di bambini con emoglobinuria, va eseguito appena possibile.

Viene spesso riferito un episodio infettivo nell'anamnesi, in genere di natura virale; i bambini possono avere febbre, pallore, dolori addominali, urine scure per l'emoglobinuria. Il decorso clinico è in genere favorevole nelle forme post infettive.

AEA mista

E' decisamente più rara in età pediatrica (< 5% delle AEA infantili), è caratterizzata dalla contemporanea presenza di autoanticorpi IgM a frigore nel siero e DAT positivo per IgG o IgG/C3d o C3d. E' fondamentale un corretto inquadramento laboratoristico con DAT positivo e riscontro sierologico di IgM, per suffragarne la diagnosi (13,18). Esistono infatti dati che indicano che il 35% dei pazienti con anemia emolitica da anticorpi caldi presenta crioagglutinine reattive a 20°C, ma una grande maggioranza di queste sono clinicamente insignificanti e solo il 5% reagisce a 37°C. Quindi se non viene documentata la presenza di un anticorpo freddo con un'ampiezza termica >30°C, in associazione con un anticorpo caldo, non può essere avanzata una diagnosi di anemia emolitica da anticorpi misti (24).

I bambini affetti tendono a presentare un'emolisi severa, a volte con emoglobinuria e/o con esacerbazioni intermittenti. Il follow up è necessario per la frequente possibilità di evoluzione verso una patologia di natura prevalentemente immunologica.

Dati clinici

Il bambino con AEA giunge all'osservazione clinica con un quadro obiettivo e sintomatologico spesso rilevante (tab. IV) (1,2); all'esordio necessita quasi sempre di ricovero e comunque di frequenti controlli non essendo prevedibile l'andamento clinico nell'immediato. L'anemia si accompagna a sintomi generali aspecifici quali astenia, adinamia, cardiopalmo, dispnea da sforzo e a segni legati all'emolisi, in particolare subittero, talvolta ittero franco. Le urine e le feci possono apparire iperpigmentate. In una piccola percentuale di bambini (< 5%) l'esordio dell'AEA può essere molto grave con comparsa di stato saporoso e/o di oligo-anuria.

La milza è ingrandita in circa un terzo dei pazienti per l'attività emocateretica ma non è mai di grandi dimensioni; se la splenomegalia è invece imponente va considerata la possibilità di altra patologia sovrapposta, l'epatomegalia è infrequente.

La presenza di un quadro febbrile comparso nel mese precedente la diagnosi è riscontrabile anamnesticamente nella maggior parte dei bambini con AEA.

A volte può essere presente una sindrome emorragica cutanea e/o mucosa che deve far insorgere il sospetto di una piastrinopenia associata.

Tabella IV. Segni clinici

Segno	Frequenza (%)
Pallore	80
Astenia, adinamia, dispnea da sforzo	60-80
Febbre	60
Stato soporoso, oligo-anuria	<5
Subittero	50
Ittero	30
Petecchie, ecchimosi, sindrome emorragica	10-20
Urine e feci iperpigmentate	60-80
Emoglobinuria	20-30
Ematuria	10-20
Splenomegalia	30
Epatomegalia	15

Dati tratti dalle casistiche riportate in Aladjidi et al (2) e Petz (24)

Criteri diagnostici

Gli esami di primo livello da richiedere per validare il sospetto diagnostico sono volti a confermare **l'anemia** (emocromo, striscio di sangue periferico), **l'emolisi** (reticolociti, bilirubina totale e frazionata, LDH, aptoglobina, esame urine) e la presenza di autoanticorpi (DAT e IAT). Gruppo sanguigno, funzionalità epatica, renale ed elettrolitica completano l'inquadramento iniziale (tab V) (1, 10).

Tabella V. Esami ematologici di primo livello

Emocromo, striscio di sangue periferico
Reticolociti
Indici di emolisi (aptoglobine, bilirubina totale e frazionata, LDH)
DAT e IAT (t. di Coombs diretto e indiretto)
Gruppo sanguigno
Funzionalità epatica, renale ed elettrolitica
Esame urine

IL DAT, esame fondamentale per dimostrare la presenza di autoanticorpi sarà estesamente trattato nel capitolo 5.

Nella Tabella VI vengono riportate le alterazioni dell'emocromo e dei reticolociti nell'AEA con alcune note e le possibili diagnosi differenziali.

Tabella VI. Interpretazione dei principali esami diagnostici

Esame	Reperto	Note	Diagnosi differenziale
GR e Hb MCV	↓↓↓ Normale o lievemente ↑	Il lieve aumento è correlato alla reticulocitosi; se ↑↑, ci può essere aggregazione delle emazie dipendente da anticorpi IgM a struttura pentamerica capaci di fare agglutinare le emazie	
GB	Normale	Falsamente elevato in corso di eritroblastosi (linfocitosi) Se ↓ considerare ipo-aplasia BM	Leucemie, mielodisplasie, insufficienza midollare
PLT	Normale	Se ↓ considerare DD	Anemia emolitica microangiopatica, S. Evans, ipo-aplasia BM
Reticolociti	Di solito ↑↑↑ Nel 10% ↓	Autoanticorpi vs eritroblasti intramidollari, apoptosi, Infezione Parvovirus B19	Ipo-aplasia BM
Aspirato midollare	Iperplasia eritroide	Non necessario per la diagnosi; indicato in presenza di reticulocitopenia per la DD verso altre anemie	Leucemie, mielodisplasie, insufficienza midollare
Morfologia eritrocitaria	Anisocitosi Policromasia Sferocitosi		Altre anemie emolitiche: sferocitosi ereditaria, etc
Bilirubina indiretta	↑	La bilirubina diretta non dovrebbe eccedere il 10-20%	
LDH, AST, ALT	↑	Segno di citolisi eritrocitaria, maggiore aumento di AST; LDH ↑↑↑ in caso di emolisi intravasale	Epatite

In generale, indipendentemente dall'autoanticorpo, l'emocromo mostra anemia con MCV normale o falsamente aumentato, le restanti linee cellulari sono generalmente nella norma, una concomitante riduzione di una o entrambe le altre linee cellulari potrebbe indicare ipofunzione midollare. Una concomitante piastrinopenia, oltre che caratterizzare il quadro di una anemia emolitica microangiopatica, deve far insorgere il sospetto della sindrome di Evans (2).

I reticulociti sono tipicamente aumentati, nell'ordine del 10-30% rispetto al numero totale dei globuli rossi (1,2). Nel 10% dei bambini l'AEA può associarsi a reticulocitopenia (15-17) o per reazione degli autoanticorpi contro antigeni dei precursori eritroidi o per induzione di meccanismi apoptotici a carico degli eritroblasti midollari o per concomitante infezione virale, in particolare da Parvovirus B19 (17-20).

La valutazione morfologica dello striscio di sangue periferico può evidenziare anisocitosi delle emazie e la presenza di **numerosi sferociti** nella forma indotta da autoanticorpi caldi di classe IgG a causa del passaggio attraverso la milza; ciò può indurre ad una erranea

diagnosi di sferocitosi ereditaria (21). Nella AEA indotta da autoanticorpi di classe IgM è meno frequente la presenza di sferociti, anche se è possibile che i globuli rossi che hanno fissato frammenti del complemento possano assumere un aspetto sferico (22). Più raramente possono essere osservati eritrociti a lacrima o schistociti (23). Molto caratteristica è la policromasia delle emazie per l'alta presenza di reticolociti e di globuli rossi nucleati che vengono messi in circolo dal midollo iperattivo. Sia pure raramente si rende evidente allo striscio di sangue periferico un quadro di eritrofagocitosi (1).

Nei bambini con AEA l'aspirato midollare non è di solito richiesto, ma va eseguito se è necessario escludere malattie oncologiche, mielodisplasia, insufficienza midollare. La valutazione del midollo osseo evidenzia iperplasia eritroide maturante, a volte con lieve diseritropoiesi con normalità delle restanti serie emopoietiche (1).

L'esame urine è solitamente negativo tranne che nei casi di emolisi intravascolare in cui, oltre al dato obiettivo di emissione di urine scure, ci sarà positività per presenza di sangue pur con assenza di emazie all'esame microscopico del sedimento urinario (1).

Sono generalmente aumentati l'LDH e le transaminasi, specie l'AST (da rilascio di enzimi intraeritrocitari).

La bilirubina risulta aumentata nella sua frazione indiretta, mentre la frazione diretta non dovrebbe eccedere il 10-20% del totale (1), ridotta è l'aptoglobina che lega l'emoglobina libera plasmatica in eccesso.

Altri elementi utili per la diagnosi

Altri esami utili da eseguire nel corso della valutazione iniziale, una volta confermata la diagnosi ed in base all'andamento clinico della stessa, sono quelli indicati nella tab. VII.

Tabella VII. Esami utili nel corso della valutazione diagnostica iniziale

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Tipizzazione eritrocitaria estesa, in previsione di eventuale trasfusione• Ulteriori indagini immunoematologiche• Markers epatite B, C e HIV (prima di un eventuale trasfusione)• Test coagulativi• Protidemia ed elettroforesi proteica• Dosaggio Immunoglobuline• C3, C4, CH50• Autoanticorpi (ANA, anti DNA, ASMA), Anticorpi antifosfolipidi, RA test• Funzionalità tiroidea e Anticorpi anti tiroide (anti TG, anti TPO)• Sottopopolazioni linfocitarie (CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56)• DNTs (double negative T cells): CD3+, CD4-, CD8-, TCRalfa/beta+• PCR• Test infettivologici basali: EBV, CMV, PVB19, HSV• Altre valutazioni infettivologiche se clinicamente ritenuto necessario |
|--|

Per quanto riguarda la ricerca delle possibili cause infettive nel determinismo dell'AEA si ritiene utile eseguire gli accertamenti microbiologici per gli agenti patogeni virali più frequentemente causa di una AEA infantile e tra questi l'EBV, il CMV, il Parvovirus B19,

l'HSV. Altri esami microbiologici vanno eseguiti se clinicamente ritenuto necessario (mycoplasma, rotavirus, varicella, pneumococco, escherichia coli, enterovirus, adenovirus, virus dell'epatite gli altri agenti patogeni riscontrati più frequentemente nell'AEA).

Un'infezione documentata all'esordio di AEA è oggi diagnosticabile in circa il 20% dei bambini (2).

Tra le altre forme di AEA secondarie ad altra patologia occorre ricordare che una malattia immunologica (patologia autoimmune, immunodeficienza primitiva) precede l'AEA in una percentuale non trascurabile di pazienti, certamente superiore al 15 %, oltre che insorgere secondariamente ad essa e ciò rende necessaria l'esecuzione all'esordio di una AEA di esami di laboratorio allargati che indagano patologie del sistema immunitario.

Utile l'esecuzione di esami strumentali routinari (Rx torace, ecografia addome) e una valutazione cardiologica.

Da rilevare come il 10% circa dei bambini può manifestare una AEA nel decorso di disordini ematologici per lo più trasfusione dipendenti (anemia a cellule falciformi, talassemia major, mielodisplasia e trattasi in genere di forme da autoanticorpi caldi di tipo IgG) o neoplastici (linfomi non Hodgkin, leucemie acute, tumori solidi e trattasi per lo più di forme da autoanticorpi freddi) (4).

Nello studio epidemiologico francese, nel valutare le possibili cause che sottendono all'AEA, si è rilevato che l'8% dei bambini ha genitori con consanguineità di primo-terzo grado, mentre un ulteriore 8% presenta malformazioni somatiche o anomalie cromosomiche; la prematurità è presente nel 9% dei pazienti; nel 3% un genitore riferisce una neoplasia mentre il 12% dei genitori o dei germani soffre di una patologia immunologica (2).

Si ritiene necessaria, alla luce di quanto valutato, un'anamnesi familiare e personale accurata e mirata a evidenziare possibili cause predisponenti all'AEA.

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ Si raccomanda all'esordio, nel sospetto di una AEA, l'esecuzione degli accertamenti riportati in tab. V **8,9 - A**
- ◆ Nel corso della valutazione diagnostica iniziale risultano utili gli esami riportati nella tabella VII **8,3 - B**
- ◆ L'esecuzione dell'aspirato midollare è indicato in presenza di altra citopenia associata, reticolocitopenia persistente e nel sospetto di malattia oncologica o di mielodisplasia **8,7 - B**

Provvedimenti di appropriatezza incerta

- ◆ In ragione della elevata incidenza di forme di AEA associate a patologie del sistema immunitario, spesso non evidenti al momento della diagnosi di AEA, sia essa insorta in concomitanza o meno con infezione accertata, si raccomanda l'approfondimento diagnostico per patologie del sistema immunitario, come da tabella VII, in ogni caso di AEA ad insorgenza pediatrica **4,9 - D**

Allegato A. Autoanticorpi: classe, struttura, avidità, tipo di emolisi

A seconda che l'autoanticorpo sia di classe IgG o IgM, grazie alla diversa struttura e alla differente capacità di attivare il complemento, vi possono essere delle peculiarità nel quadro clinico e laboratoristico di primo livello che possono indirizzare verso una iniziale, anche se grossolana, diagnostica differenziale.

Gli autoanticorpi di tipo IgM, a struttura pentamerica, sono in grado di attivare molto efficacemente il complemento; se è presente un alto titolo anticorpale l'attivazione del complemento sarà così imponente da generare un'emolisi diretta intravascolare, senza intervento del sistema reticolo-macrofagico e con comparsa di emoglobinuria (11). Se il titolo anticorpale non è tale da comportare emolisi intravascolare, il frammento C3b fissato sulla superficie dei globuli rossi, come conseguenza dell'attivazione del complemento indotta dagli autoanticorpi, interagisce con il suo ligando presente sulla superficie dei macrofagi epatici e compare emolisi extravascolare e clearance a livello epatico (12). Il falso aumento dell'MCV rilevabile all'emocromo è sempre secondario all'agglutinazione in vivo dei globuli rossi mediato dalle IgM pentameriche (1,9,10).

Gli autoanticorpi di tipo IgG, invece, hanno scarsa capacità di attivare la via del complemento ma sono in grado di fissarsi molto efficacemente sulla superficie dei globuli rossi, l'emolisi non avverrà nel compartimento vascolare ma piuttosto a livello splenico, dove la particolare struttura anatomica della milza permette di fagocitare le emazie che hanno fissato gli autoanticorpi oppure di rimuovere una porzione della loro membrana, generando una popolazione di microsferociti, attraverso il legame tra il frammento Fc degli autoanticorpi e il suo recettore, espresso dai macrofagi splenici (13,14). L'MCV sarà in questo caso normale, in quanto valore medio tra le popolazioni di piccoli sferociti e di grandi reticolociti, contemporaneamente presenti in circolo (1,10).

Nell'emolisi intravascolare l'emoglobina viene liberata nel sangue e separata dall'eme, l'emoglobina si lega all'aptoglobina con conseguente rimozione dal circolo ad opera del fegato. Se i valori di emoglobina libera superano una certa soglia l'aptoglobina viene sovrasaturata, l'emoglobina libera supera il filtro renale e viene eliminata direttamente con le urine con riscontro di emoglobinuria. L'eme invece si lega all'emopessina formando un complesso che viene internalizzato a livello epatico con recupero sia del ferro che della struttura porfirinica. L'eme può inoltre legarsi all'albumina e formare un composto, la metemalbumina, che viene captata dal fegato e metabolizzata.

Nell'emolisi extravascolare non c'è emoglobina libera ma si osserva aumento dei prodotti di degradazione dell'eme. L'emoglobina contenuta negli eritrociti viene catabolizzata e l'eme che viene liberato grazie all'eme-ossigenasi viene convertita in biliverdina con distacco del ferro e della globina. La biliverdina a sua volta viene trasformata in bilirubina grazie ad un enzima citosolico detto biliverdina-reduttasi. Questa bilirubina non coniugata è insolubile e quindi per essere trasportata nel torrente circolatorio deve essere legata ad una proteina sierica prodotta dal fegato, l'albumina. Il composto bilirubina-albumina viene captato dal fegato, all'interno degli epatociti la bilirubina si distacca dall'albumina e viene coniugata con acido glucuronico con formazione della bilirubina diretta o coniugata. La bilirubina così coniugata è resa solubile e viene quindi escreta dall'epatocita nella bile, viene di conseguenza riversata nell'intestino ove subisce un metabolismo particolare, viene infatti trasformata in urobilinogeno che viene escreto con le feci sotto forma di pigmento colorato (stercobilinogeno), una minima parte viene riassorbita dal sangue e o viene veicolata al fegato ed escreta nuovamente con la bile o viene escreta con le urine ove viene ossidata a urobilina, sostanza responsabile della colorazione giallastra delle urine.

Durante il catabolismo dell'emoglobina si liberano inoltre CO, Ferro e Aminoacidi che vengono riutilizzati (Ferro e Aminoacidi) o eliminati (CO).
Le figure 1 e 2 riportano una rappresentazione schematica rispettivamente dell'emolisi extra- ed intra-vascolare

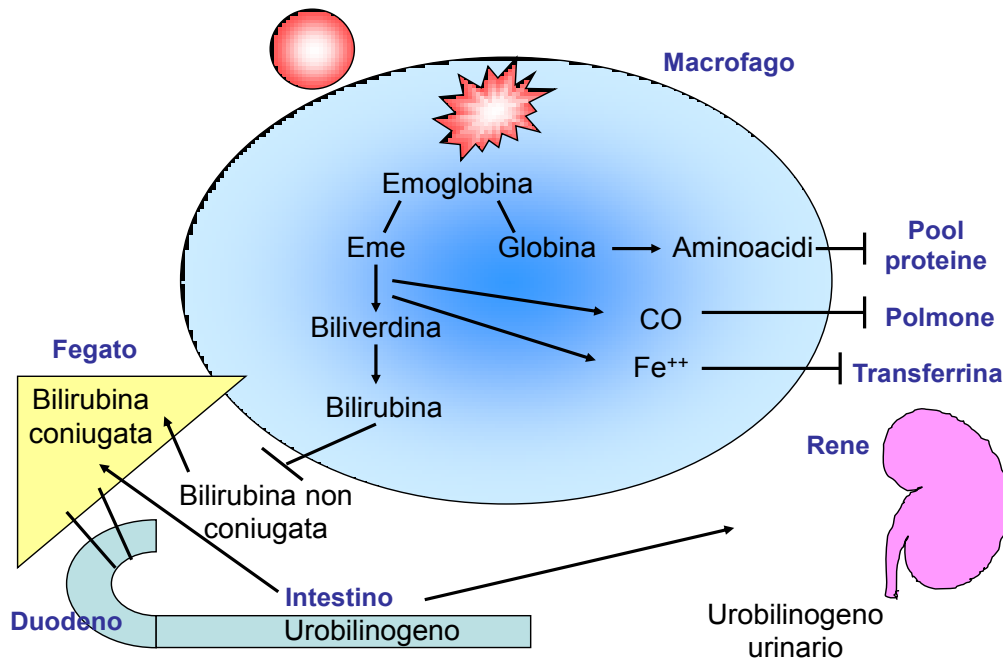


Figura 1. Rappresentazione schematica dell'emolisi extra-vascolare

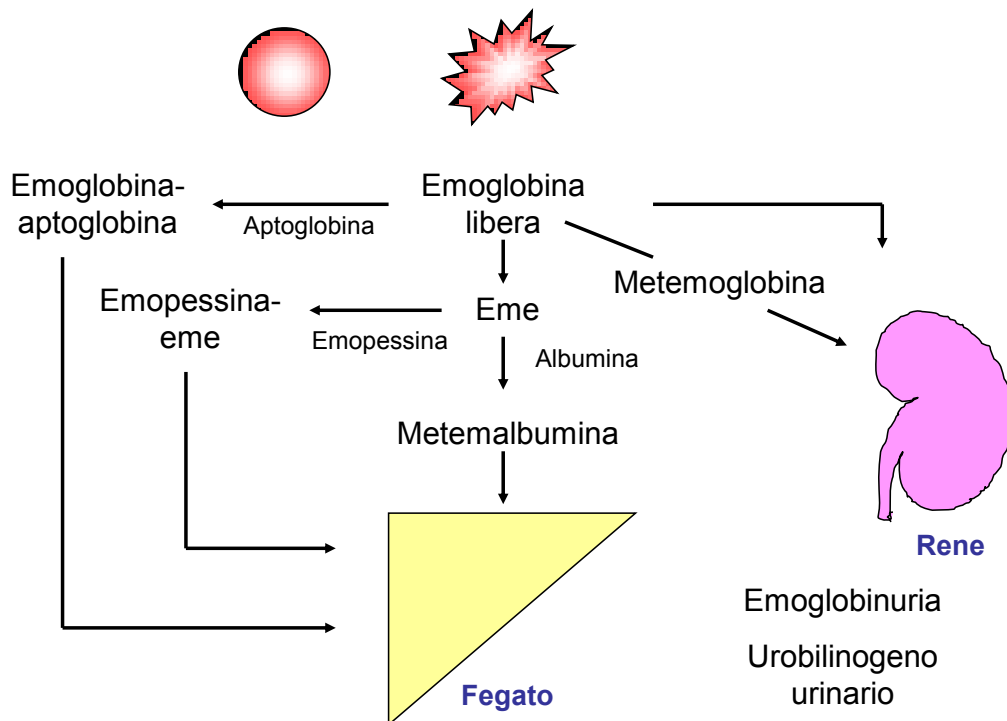


Figura 2. Rappresentazione schematica dell'emolisi intra-vascolare

Bibliografia

1. Ware RE. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood 2009 7th edition.
2. Nathalie Aladjidi, G. Leverger, T. Leblanc, M. Quitterie Picat, G. Michel, Y. Bertrand, B. Bader-Meunier, A. Robert, B. Nelken, V. Gandener, H. Savel, J.L. Stephan, F. Fouyssac, J. Jeanpetit, C. Thomas, P. Rohrllich, A. Baruchel, A. Fischer, G. Chene, Y. Perel, New insights into childhood autoimmune haemolytic anemia: a French national observational study of 265 children. Haematologica 2011;96(5):655 (P-III)
3. Zuelzer WW, Mastrangelo R, Stulberg CS, Poulik MD, Page RH, Thompson RI. Autoimmune haemolytic anemia. Natural history and viral-immunologic interactions in childhood. Am J Med. 1970;49(1):80-93. (P-V)
4. Vaglio S, Arista MC, Perrone MP, Tomei G, Testi AM, Coluzzi S, et al. Autoimmune haemolytic anemia in childhood: serologic features in 100 cases. Transfusion. 2007;47(1):50-4. (P-V)
5. Habibi B, Homberg JC, Schaison G, Salmon C. Autoimmune haemolytic anemia in children. A review of 80 cases. Am J Med. 1974;56(1):61-9. (P-V)
6. Sokol RJ, Hewitt S, Stamps BK, Hitchen PA. Autoimmune hemolysis in childhood and adolescence. Acta Hematol. 1984;72(4): 245-57. (P-V)
7. Donath J, Landsteiner K. Uber paroxysmale hamoglobinurie. MMW 1904;36:1590-3 (Review)
8. Gottsche B, Salama A, Mueller.Eckhardt C. Donath-Landsteiner autoimmune haemolytic anemia in children: a study of 22 cases. Vox Sang 1990;58:281-6. (AP-V)

9. Dhaliwal G, Cornett PA, Tierney LM Jr. Hemolytic anemia. *Amer Fam Phisician*. 2004 June; 11:2599-06. (Review)
10. Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, Arber DA, Means RT. *Wintrobe's Clinical Hematology*, 12th edition. Volume I, part IV, section 3, capter 33, pages 956- 977.
11. Brown EJ. Complement receptors, adhesion, and phagocytosis. *Infect Agents Dis*. 1992;2:63-70. (Review).
12. Frank MM, Fries LF. The role of complement in inflammation and phagocytosis. *Immunol Today*. 1991 Sep;12(9):322-6. (Review).
13. Logue G, Rosse W. Immunologic mechanisms in autoimmune hemolytic disease. *Semin Hematol*. 1976 Oct;13(4):277-89. (Review)
14. Nydegger UE. Immune complex pathophysiology. *Ann N Y Acad Sci*. 2007 Aug;1109:66- 83. (Review)
15. Liesveld JL, Rowe JM, Lichtman MA. Variability of the erythropoietic response in autoimmune hemolytic anemia: analysis of 109 cases. *Blood*. 1987 Mar;69(3):820-6. (A-IV)
16. Olcay L, Düzova A, Gümrük F. A warm antibody mediated acute hemolytic anemia with reticulocytopenia in a four-month-old girl requiring immunosuppressive therapy. *Turk J Pediatr*. 1999 Apr-Jun;41(2):239-44. (P-V).
17. Jastaniah WA, Pritchard SL, Wu JK, Wadsworth LD. Hyperuricemia and reticulocytopenia in association with autoimmune hemolytic anemia in two children. *Am J Clin Pathol*. 2004 Dec;122(6):849-54. (P-V).
18. Van De Loosdrecht AA, Hendriks DW, Blom NR, Smit JW, De Wolf JT, Vellenga E. Excessive apoptosis of bone marrow erythroblasts in a patient with autoimmune aemolytic anaemia with reticulocytopenia. *Br J Haematol*. 2000 Feb;108(2):313-5. (P-V).
19. de Las Nieves López MA, Medina Perez Mf, González Hermoso C. Erythroblastopenia and Parvovirus B19 infection in a healthy child. *Haematologica*. 2000;85(E-letters):E07. (P-V).
20. Smith MA, Shah NS, Lobel JS. Parvovirus B19 infection associated with reticulocytopenia and chronic autoimmune hemolytic anemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1989;11(2):167-9. (P-V)
21. LoBuglio AF, Cotran RS, Jandl JH. Red cells coated with immunoglobulin G: binding and sphering by mononuclear cells in man. *Science*. 1967 Dec 22;158(3808):1582-5. (Review)
22. Brown DL, Nelson DA. Surface microfragmentation of red cells as a mechanism for complement-mediated immune spherocytosis. *Br J Haematol*. 1973 Mar;24(3):301-5. (Review)
23. Farolino DL, Rustagi PK, Currie MS, Doeblin TD, Logue GL. Teardrop-shaped red cells in autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol*. 1986 Apr;21(4):415-8.
24. Petz LD. Cold antibody autoimmune hemolytic anemias. *Blood Rev*. 2008; 22: 1-15 (AP-V)

3. AEA POST INFETTIVA

Una sindrome febbrile viene descritta frequentemente nel mese precedente l'esordio dell'AEA pediatrica (1,2). Nella casistica francese di 265 casi di Aladjidi et al. una malattia infettiva (da EBV, mycoplasma pneumoniae, CMV, parvovirus, rotavirus, varicella, HHV6, E.Coli, pneumococco, adenovirus, HSV 1, enterovirus) era presente nel 22% dei casi mentre nel 60% dei casi l'esordio era stato preceduto da sintomi febbrili (2-4). Da notare inoltre che, sempre nello studio francese (2), nel corso del follow up, più della metà dei pazienti con AEA sono risultati avere una forma complessa, secondaria a malattia del sistema immunitario. Le forme primitive o riconducibili esclusivamente ad infezione rappresentano il 47% del totale (2), suddivise in idiopatiche (37%) e isolate post-infettive (10%). Non è sempre agevole poter distinguere le forme primitive idiopatiche da quelle post-infettive isolate. Anche la tradizionale divisione tra forme da anticorpi caldi e freddi, dove questi ultimi sono più tipicamente associati a forme post-infettive (5-7) non è confermata dallo studio francese nel quale tali anticorpi si riscontrano nel 35% delle forme post-infettive. Analogamente, anticorpi freddi sono stati identificati anche nel 3% dei casi poi evoluti in forme complesse (sindrome di Evans) (2).

Le AEA isolate post-infettive da anticorpi freddi prevalgono in bambini di età prescolare e scolare (5,8), principalmente nella emoglobinuria parossistica a frigore da IgG secondaria ad infezioni del tratto respiratorio. L'AEA post-infettiva da agglutinine a frigore di classe IgM è descritta in seguito all'infezione da Mycoplasma Pneumoniae e da EBV in età adolescenziale (6). La prognosi delle forme idiopatiche e isolate post-infettive è principalmente correlata alla tipizzazione autoanticorpale (2). **Il decorso clinico delle forme post-infettive da anticorpi freddi è generalmente benigno, soprattutto nella emoglobinuria parossistica a frigore (5-7), con risoluzione e negativizzazione del DAT in poche settimane.** L'utilizzo di una terapia immunosoppressiva può essere indicato dalla severità del quadro, o in attesa del riscontro diagnostico specifico, per programmare una possibile rapida sospensione successiva (7,10). Le forme caratterizzate da anticorpi caldi sono a prognosi peggiore essendo caratterizzate da morbidità rilevante, risposta variabile ai trattamenti, decorso soggetto a ricadute (1,2,9,11).

La sopravvivenza globale delle forme idiopatiche o post infettive, nello studio francese, risulta essere pari al 100% (follow up di 2,4 anni con range 0-10.5) con una sopravvivenza libera da malattia pari all'86% (2).

Bibliografia

1. Nelson textbook of pediatrics, 19th edition, Chapter 458: Hemolytic anemias resulting from extracellular factors-immune hemolytic anemias (George B. Segel, Charles H. Packman).
2. Aladjidi N et al. New insights into childhood autoimmune hemolytic anemia: a French national observational study of 265 children. Haematologica. 2011 May;96(5):655-63. Epub 2011 Jan 12. (P-V)
3. de la Rubia J, Moscard F, Arriaga F, Monteagudo E, Carreras C, Marty ML. Acute parvovirus B19 infection as a cause of autoimmune hemolytic anemia. Haematologica. 2000 Sep;85(9):995-7. (P-V)
4. Terada K, Tanaka H, Mori R, Kataoka N, Uchikawa M. Hemolytic anemia associated with cold agglutinin during chickenpox and a review of the literature. J Pediatr Hematol Oncol. 1998 Mar-Apr;20(2):149-51. (P-V)
5. Sokol RJ, Hewitt S, Stamps BK, Hitchen PA. Autoimmune haemolysis in childhood and adolescence. Acta Haematol. 1984;72(4):245-57. (P-V)

6. Petz LD. Cold antibody autoimmune hemolytic anemias. *Blood Rev.* 2008 Jan;22(1):1-15. (Review)
7. Martinez Nadal S, Alcorta Loyola I, Estella Aguado J, Rives Sola S, Toll Costa T. Autoimmune hemolytic anemia with complement-positive direct antiglobulin test. *An Pediatr (Barc).* 2003 Sep;59(3):294-6. (P-V)
8. Sokol RJ, Hewitt S, Stamps BK. Autoimmune hemolysis: an 18 year study of 865 cases referred to a regional transfusion centre. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1981 Jun 20;282 (6281): 2023-7. (AP-V)
9. Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R. The pathology of autoimmune haemolytic anaemia. *J Clin Pathol.* 1992 Dec;45(12):1047-52. (Review)
10. Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R. Erythropoiesis: Paroxysmal Cold Haemoglobinuria: A Clinico-Pathological Study of Patients with a Positive Donath-Landsteiner Test. *Hematology* 1999;4(2):137-164 (AP-V)
11. Oliveira MC et al. Clinical course of autoimmune hemolytic anemia: an observational study. *J Pediatr (Rio J).* 2006 Jan-Feb; 82(1): 58-62. (P-V)

4. VACCINAZIONI IN PAZIENTI CON AEA

AEA secondaria a vaccinazione

Ad oggi è molto discusso il possibile ruolo delle vaccinazioni nella genesi di malattie autoimmunitarie e l'indicazione all'immunizzazione attiva per i soggetti affetti da queste malattie è spesso causa di perplessità e preoccupazione.

In generale, la prevalenza di malattie autoimmunitarie in seguito a vaccinazione è estremamente bassa, nonostante le centinaia di milioni di dosi somministrate ogni anno (1). Le malattie clinicamente rilevanti ritenute secondarie a diversi tipi di vaccini sono soprattutto sindromi neurologiche (sindrome di Guillain Barré, encefalomyelite acuta disseminata, neurite ottica, mielite trasversa, etc.); tra le manifestazioni ematologiche è stata descritta più frequentemente la piastrinopenia (2). **I casi di AEA secondaria a vaccinazione** descritti in letteratura sono molto pochi e definiti come **eventi estremamente rari** (1). La maggior parte di essi riguarda bambini che hanno sviluppato AEA in seguito a vaccinazione contro difterite-pertosse-tetano (3-5), ma è stato descritto un caso secondario a vaccino orale antipoliomyelite ricaduto in seguito a vaccinazione contro morbillo-parotite-rosolia ed un altro caso insorto in seguito a vaccinazione multipla contro difterite-tetano-pertosse, *Haemophilus influenzae*, epatite B e poliomyelite (6). Molto recentemente sono stati descritti altri due casi di AEA insorta in adulti in seguito a vaccinazione anti-influenzale (7). **I casi ritenuti secondari a vaccinazione sembrano essere accomunati da un quadro clinico più grave** e rapidamente evolutivo rispetto alle forme di AEA tipicamente descritte in età pediatrica, con necessità di cure intensive in diversi casi e con esito fatale in un caso. E' bene considerare che si tratta di eventi molto rari, nei quali non è stata stabilita una sicura correlazione causa-effetto e la cui forza di evidenza è molto bassa. Infatti l'Institute of Medicine di Washington ha definito l'AEA un possibile evento avverso alla vaccinazione contro difterite-tetano-pertosse ma le evidenze disponibili sono risultate non sufficienti per stabilire una relazione causale (8). Facendo riferimento alle segnalazioni pervenute al sistema americano di sorveglianza degli eventi avversi ai vaccini (9), gli autori di uno studio più recente hanno valutato il numero di casi di AEA e la loro relazione con le vaccinazioni contro difterite-tetano-pertosse ed epatite B. I casi segnalati sono stati molto rari e non è stata trovata associazione statisticamente significativa tra AEA e vaccino in entrambi i casi, anche se la vaccinazione contro l'epatite B risultava associata ad aumentato ma non significativo rischio di AEA (10).

Attualmente **la valutazione del rapporto rischio/beneficio**, in merito al possibile sviluppo di malattie autoimmunitarie, **è nettamente a favore della vaccinazione**, anche per quelle sindromi cliniche in cui è stato stabilito un nesso di causalità e, ovviamente, tanto più per malattie come l'AEA, ritenuta estremamente rara e non definitivamente associata alle vaccinazioni (1,2,11).

Vaccinazioni in bambini affetti da AEA

La popolazione di bambini affetti da AEA, per via della terapia immunosoppressiva praticata, è ad **alto rischio di infezioni** e si gioverebbe della prevenzione operata attraverso l'immunizzazione attiva, tuttavia la sicurezza e l'efficacia della vaccinazione potrebbero essere alterate dalla malattia stessa e/o dalle terapie necessarie.

Facendo riferimento alla recente pubblicazione dell'organizzazione EULAR (European League Against Rheumatism) (12), è risultato che bambini affetti da malattie reumatologiche non presentano peggioramento delle condizioni cliniche, modifiche dell'attività della malattia o un maggior rischio di eventi avversi dopo vaccinazione. In accordo con questi dati, un'altrettanto recente revisione della letteratura ha rilevato un **accettabile profilo di sicurezza delle vaccinazioni in diverse malattie autoimmunitarie**, sebbene sia stata rilevata una più alta incidenza di sintomi dopo vaccino antinfluenzale in bambini affetti da artrite cronica e in adulti con LES dopo vaccino contro HBV (13). Dunque i dati oggi disponibili sono non del tutto esaustivi o talvolta contrastanti. Tuttavia l'ACIP (Advisory Committee on Immunization Practices) individua nella condizione di "alterazioni dell'immunocompetenza", termine piuttosto generico comprendente diverse entità cliniche, un'indicazione alla vaccinazione con vaccino antinfluenzale inattivato e con vaccini polisaccaridici per l'alto rischio di infezioni gravi o complicanze prevenibili con tali vaccini (14). I bambini con AEA entrano in questa popolazione a rischio quando sono sottoposti a terapia immunosoppressiva.

Indicazioni alla vaccinazione in bambini con AEA

Come principio generale, **durante il trattamento immunosoppressivo non devono essere somministrati i vaccini vivi attenuati**, come quelli contro morbillo, parotite, rosolia (MPR), varicella zoster (VZV), per il rischio di malattia vaccinale e/o per la mancanza di dati d'efficacia, mentre **possono essere somministrati vaccini "non vivi"**, ovvero con anatossine, subunità proteiche, DNA ricombinante o antigeni batterici come quelle contro tetano, difterite, pertosse, poliomielite, epatite B (HBV), influenza, emofilo, pneumococco, meningococco, papillomavirus (HPV), alle dosi standard e secondo lo schema raccomandato per i bambini sani (12,14,15).

Quindi bambini con AEA che eseguono terapia con alte dosi di corticosteroidi (≥ 2 mg/kg nei bambini oppure ≥ 20 mg/die negli adulti) per un periodo prolungato (≥ 14 giorni) o con altri farmaci immunosoppressori sviluppano uno stato di immunodepressione tale da alterare sicurezza ed efficacia dei vaccini vivi attenuati, che dovrebbero essere rimandati dopo almeno 3-6 mesi dall'interruzione della terapia, mentre possono ricevere vaccini "non-vivi" anche durante il trattamento immunosoppressivo.

E' comunque raccomandabile evitare, laddove possibile, tutte le vaccinazioni durante la terapia immunosoppressiva, perché la risposta anticorpale potrebbe essere ridotta (14). Infatti, se i vaccini "non vivi" vengono eseguiti 14 giorni prima oppure durante il trattamento immunosoppressivo, viene raccomandata la rivaccinazione almeno 3 mesi dopo la fine della terapia e quando viene ristabilita immunocompetenza (14). Nei bambini affetti da malattie reumatologiche, viene raccomandato di somministrare i vaccini "non- vivi" durante la terapia immunosoppressiva, in quanto non sono stati rilevati importanti eventi avversi, e di valutare il livello anticorpale raggiunto dopo la vaccinazione, come garanzia di una buona efficacia vaccinale (12).

Poiché i bambini con AEA in genere eseguono cicli di terapia e non un trattamento cronico a lungo termine come i bambini con malattie reumatologiche, si consiglia, laddove possibile, di non eseguire alcun tipo di vaccinazione durante la terapia immunosoppressiva.

Se i bambini hanno interrotto il loro programma vaccinale a causa dell'inizio della terapia immunosoppressiva, devono riprendere le vaccinazioni con vaccini "non- vivi" e vivi attenuati secondo quanto previsto dal programma vaccinale normale, dopo un

tempo congruo dalla fine della terapia immunosoppressiva che va dai 3 mesi ai 6 mesi (14,15). Non è chiaro se i bambini che hanno terminato il loro ciclo vaccinale devono essere rivaccinati o devono ricevere una dose booster dopo 3-6 mesi dalla terapia immunosoppressiva; infatti secondo l'ACIP ciò non è necessario e si potrebbe prevedere il dosaggio del livello anticorpale per valutare l'eventuale necessità di rivaccinazione (14), mentre secondo il Gruppo di Lavoro "Terapia di Supporto" dell'AIEOP, che fa riferimento a studi su bambini con malattie oncologiche, andrebbe prevista rivaccinazione o somministrazione di una dose booster dei vaccini "non- vivi" dopo 6 mesi dalla fine della chemioterapia oppure dopo 6-12 mesi per i vaccini basati su virus vivi attenuati. Non sarebbe necessario, invece, effettuare un controllo anticorpale né prima né dopo il programma di rivaccinazione (15).

Se i bambini hanno eseguito terapia con immunoglobuline i vaccini "non-vivi" possono essere somministrati alle dosi standard senza perdita di efficacia (14) mentre la risposta anticorpale ai vaccini vivi attenuati può essere alterata. Tipicamente la somministrazione e.v. di immunoglobuline può alterare la risposta alla vaccinazione MPR e contro la varicella. E' necessario un intervallo di almeno 14 giorni dall'ultima somministrazione di immunoglobuline, anche se in questi casi la risposta al vaccino potrebbe non essere ottimale. L'ACIP raccomanda di **somministrare il vaccino MPR e contro la varicella** dopo **almeno 8 mesi** dall'ultima somministrazione di immunoglobuline se il dosaggio utilizzato è stato di 400 mg/kg, dopo 10 mesi se il dosaggio è stato di 1 g/kg, dopo 11 mesi se il dosaggio è stato di 2 g/kg (14).

Se i bambini vengono sottoposti a splenectomia devono eseguire le vaccinazioni contro pneumococco, meningococco ed emofilo almeno 14 giorni prima della splenectomia e secondo il programma vaccinale normale previsto per l'età con vaccino coniugato 13-valente contro lo pneumococco e con vaccino coniugato contro il meningococco di gruppo C (14). I bambini che hanno completato il ciclo vaccinale contro l'*Haemophilus Influenzae*, come previsto dal calendario vaccinale, non necessitano di ulteriori dosi. Dopo la splenectomia i bambini devono seguire le indicazioni previste per i soggetti con asplenia anatomica o funzionale, che prevedono una dose di vaccino polisaccaridico 23-valente dopo 2 anni d'età e dopo almeno 2 mesi dall'ultima somministrazione di vaccino coniugato ed una seconda dose dopo 3-5 anni dall'ultima dose di vaccino polisaccaridico (16). Per quanto riguarda i richiami per il meningococco è opportuno fare un richiamo dopo 3 anni se il bambino è stato vaccinato prima dei 6 anni d'età, oppure dopo 5 anni se la prima vaccinazione è stata somministrata dopo i 7 anni d'età (17). E' opportuno fare un richiamo ogni 5 anni con vaccino coniugato, in considerazione dei dati che dimostrano una maggiore riduzione degli anticorpi battericidi nei soggetti splenectomizzati e dell'indicazione dell'ACIP's Meningococcal Vaccine Work Group ad effettuare ogni 5 anni il richiamo con il vaccino coniugato se il soggetto adulto ha asplenia anatomica o funzionale (18). Particolare attenzione va posta nell'eseguire le dosi di richiamo tra i 12 anni e i 18 anni, in considerazione del secondo picco di infezione in questa fascia d'età, anche tra i soggetti sani, e dell'efficacia del vaccino coniugato quando eseguito tra gli adolescenti affetti da asplenia (19).

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ Se ritenuto assolutamente necessario, durante la terapia immunosoppressiva possono essere somministrati vaccini “non-vivi” alle dosi standard e secondo lo schema classico, mentre i vaccini vivi attenuati devono essere rimandati dopo almeno 3-6 mesi dall'interruzione della terapia **8,4 - B**
- ◆ I bambini che hanno terminato il loro ciclo vaccinale non hanno bisogno di ripetere le vaccinazioni già eseguite* **7,5 - C**
- ◆ I bambini che hanno interrotto il loro programma vaccinale a causa dell'inizio della terapia immunosoppressiva devono riprendere le vaccinazioni (sia vaccini “non- vivi” che vivi attenuati) dopo 3-6 mesi dalla fine della terapia immunosoppressiva **7,4 - C**

Provvedimenti di appropriatezza incerta

- ◆ La vaccinazione antiinfluenzale deve essere effettuata annualmente dopo la splenectomia **4,9 - D**

* in alternativa a questo enunciato sono state proposte e votate, durante la consensus conference, opzioni che non hanno ricevuto validazione. Per i dettagli, vedi appendice

Bibliografia

1. Schattner A. Consequence or coincidence? The occurrence, pathogenesis and significance of autoimmune manifestations after viral vaccines. *Vaccine*. 2005 Jun 10;23(30):3876-86.(Review).
2. Salemi S, D'Amelio R. Could autoimmunity be induced by vaccination? *Int Rev Immunol*. 2010 Jun;29(3):247-69. (Review).
3. Haneberg B, Matre R, Winsnes R, Dalen A, Vogt H, Finne PH. Acute hemolytic anemia related to diphtheria-pertussis-tetanus vaccination. *Acta Paediatr Scand*. 1978 May;67(3):345-50. (P-V).
4. Downes KA, Domen RE, McCarron KF, Bringelsen KA. Acute autoimmune hemolytic anemia following DTP vaccination: report of a fatal case and review of the literature. *Clin Pediatr (Phila)*. 2001 Jun;40(6):355-8. (P-V).
5. Johnson ST, McFarland JG, Kelly KJ, Casper JT, Gottschall JL. Transfusion support with RBCs from an Mk homozygote in a case of autoimmune hemolytic anemia following diphtheria-pertussis-tetanus vaccination. *Transfusion*. 2002 May;42(5):567-71. (P-V).
6. Seltsam A, Shukry-Schulz S, Salama A. Vaccination-associated immune hemolytic anemia in two children. *Transfusion*. 2000 Aug;40(8):907-9. (P-V).
7. Montagnani S, Tuccori M, Lombardo G, Testi A, Mantarro S, Ruggiero E, Blandizzi C. Autoimmune hemolytic anemia following MF59-adjuvanted influenza vaccine administration: a report of two cases. *Ann Pharmacother*. 2011 Jan;45(1):e8. (A-V).
8. Howson CP, Howe CJ, Fineberg HV, editors, and the Committee to Review the Adverse Consequences of Pertussis and Rubella Vaccines, Division of Health Promotion and Disease Prevention, Institute of Medicine, National Academy of Sciences. Adverse effects of pertussis and rubella vaccines. Washington, DC: Institute of Medicine, 1991. (Review)
9. Segnalazioni pervenute al sistema americano di sorveglianza degli eventi avversi ai vaccini. Disponibile on line: <http://vaers.hhs.gov>

10. Naleway AL, Belongia EA, Donahue JG, Kieke BA, Glanz JM; Vaccine Safety Datalink. Risk of immune hemolytic anemia in children following immunization. *Vaccine*. 2009 Dec 9;27(52):7394-7. PIII. (P-V)
11. Wraith DC, Goldman M, Lambert PH. Vaccination and autoimmune disease: what is the evidence? *Lancet*. 2003 Nov 15;362(9396):1659-66. (Review).
12. Heijstek MW, Ott de Bruin LM, Bijl M, Borrow R, van der Klis F, Koné-Paut I, Fasth A, Minden K, Ravelli A, Abinun M, Pileggi GS, Borte M, Wulfraat NM; EULAR. EULAR recommendations for vaccination in paediatric patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis*. 2011 Oct;70(10):1704-1712. (Raccomandazioni).
13. Salemi S, D'Amelio R. Are anti-infectious vaccinations safe and effective in patients with autoimmunity? *Int Rev Immunol*. 2010 Jun;29(3):270-314. (Review).
14. National Center for Immunization and Respiratory Diseases. General recommendations on immunization --- recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep*. 2011 Jan 28;60(2):1-64. (Raccomandazioni)
15. Gruppo di Lavoro Terapia di Supporto dell'Associazione Italiana di Emato-Oncologia Pediatrica (AIEOP) Cesaro S, Bezzio S, Giacchino M, Barone A, Battisti L, Caselli D, De Santis R, Fioredda F, Frenos S, Livadiotti S, Marinello S, Zanazzo GA. Le vaccinazioni nei bambini oncoematologici durante e dopo la chemioterapia. Disponibile on line: <http://www.aieop.org/?q=lineeguida.html> (Raccomandazioni)
16. American Academy of Pediatrics Committee on Infectious Diseases. Recommendations for the prevention of *Streptococcus pneumoniae* infections in infants and children: use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) and pneumococcal polysaccharide vaccine (PPSV23). *Pediatrics*. 2010 Jul;126(1):186-90. (Raccomandazioni)
17. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2011;60:72-76.
18. Centers for Disease Control and Prevention. Updated recommendation from the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) for revaccination of persons at prolonged increased risk for meningococcal disease. *MMWR* 2009 / 58 (37); 1042-1043. (Raccomandazioni)
19. Hitt E. ACIP recommends meningococcal booster dose. *Medscape Medical News*. October 28, 2010. Disponibile on line: <http://www.medscape.com/viewarticle/731392> Accessed January 2012. (Raccomandazioni)

Appendice al cap 4

Riguardo alle indicazioni per i bambini che hanno completato il proprio ciclo vaccinale, durante la Consensus Conference sono state proposte e votate diverse opzioni, di cui una soltanto è stata validata ed è quindi riportata tra le raccomandazioni alla fine del capitolo. Di seguito riportiamo le varie opzioni con i punteggi ottenuti, ed il relativo confronto statistico.

I bambini che hanno terminato il loro ciclo vaccinale

- devono essere rivaccinati (**1,263 - A**) OPPURE
- devono ricevere una dose booster dei vaccini “non-vivi” dopo 3-6 mesi dalla terapia immunosoppressiva e una dose booster di vaccini vivi attenuati dopo 6-12 mesi dalla sospensione della terapia immunosoppressiva (**2,684 - D**) OPPURE
- devono eseguire il dosaggio del livello anticorpale ed eventualmente essere rivaccinati (**5,000 - D**) OPPURE
- non hanno bisogno di ripetere le vaccinazioni già eseguite (**7,474 - C**)

E' stato effettuato un confronto statistico tra l'opzione d e le opzioni a, b, c che ha dato forza e significatività alla opzione d nei confronti delle altre, come da tabella riportata.

Item	N	Mean±SD	Median (min-max)	p-value*
a	18	1.263±0.452	1 (1-2)	<0.001
d		7.474±1.679	8 (3-9)	
b	18	2.684±1.945	2 (1-6)	<0.001
d		7.474±1.679	8 (3-9)	
c	18	5.000±2.186	6 (1-9)	0.002
d		7.474±1.679	8 (3-9)	

*P-value from Wilcoxon signed rank test

5. DIAGNOSI DI LABORATORIO

La diagnosi di laboratorio delle AEA si basa sulla dimostrazione della natura emolitica dell'anemia e sulla presenza di autoanticorpi adesi agli eritrociti autologhi (**DAT, test dell'antiglobulina diretto** o test di Coombs diretto) e liberi nel siero (**IAT, test dell'antiglobulina indiretto** o test di Coombs indiretto). I marcatori di emolisi sono rappresentati da un **aumento del numero assoluto dei reticolociti** (assente se coesiste una eritroblastopenia midollare) e della **bilirubina indiretta**, e da una **riduzione dell'aptoglobina**; elevati livelli di LDH (> 2 volte il limite superiore del range di normalità) e la presenza di emoglobinuria sono indicativi di emolisi intravascolare (1).

Il DAT viene eseguito in prima battuta con sieri polispecifici, in grado di identificare sia IgG che C3 sulle emazie, e con varie metodiche caratterizzate da diversa sensibilità e specificità. La tabella I riporta i risultati del censimento sulle diverse metodiche eseguite presso i Centri AIEOP.

Tabella I. DAT – censimento di 20 Centri AIEOP al novembre 2012

Test	Percentuale di centri che esegue la metodica
Metodi disponibili nella maggior parte dei laboratori	
• DAT in microcolonna con antisieri polispecifici	95
• DAT in microcolonna con antisieri monospecifici	90
• DAT in provetta con antisieri poli e monospecifici	65
• Autoagglutinazione 20°	70
• DAT con emazie lavate a 4°C	60
• DAT titolo/score	75
• Emolisine bifasiche DL	65
• IAT su siero ed eluato	95
• Identificazione specificità anticorpale siero	100
• Identificazione specificità anticorpale eluato	95
• Ricerca di agglutinine fredde	95
• IAT titolo/score	90
• Caratterizzazione del range termico	85
Metodi disponibili in una parte dei laboratori	
• DAT in fase solida	40
• DAT con soluzioni a bassa forza ionica (LISS)	35
• DAT in presenza di farmaci	55
• Autoassorbimento	25
• DAT – PEG	15
Metodi non disponibili	
• ELISA-IRMA	
• Citofluorimetria	
• Test monocito-macrofagico	
• Test di stimolazione mitogenica (MS-DAT)	
• Dual DAT	

Fra le metodiche più usate soprattutto in passato, il test originale in provetta ha una soglia di sensibilità di 150-400 molecole di IgG adese alla superficie del globulo rosso, è laborioso, non automatizzabile ed i risultati sono operatore-dipendenti. Il DAT in microcolonna e in fase solida, entrambi automatizzabili, sono generalmente accreditati di una maggiore sensibilità a scapito tuttavia di una minore specificità (2-4). Infatti, va ricordato che un DAT positivo si può riscontrare occasionalmente in soggetti sani senza evidenza di anemia o di emolisi, in corso di sindrome da antifosfolipidi, in presenza di marcata ipergammaglobulinemia e in pazienti recentemente sottoposti a trattamento con immunoglobuline ad alte dosi (1). Per converso, pazienti con AEA conclamata possono risultare negativi al DAT (vedi paragrafo AEA DAT-negative). in sintesi, **DAT positivo non vuol dire necessariamente AEA e DAT negativo non esclude la diagnosi.**

In generale gli autoanticorpi di classe IgG, con attività termica ottimale a 37°C, autoanticorpi "caldi", determinano prevalentemente emolisi extravascolare (tab. III, fig 1. cap. 2), mentre gli autoanticorpi di classe IgM, che possiedono una reattività ottimale a 4°C, autoanticorpi "freddi", per la loro elevata avidità e capacità di fissare il complemento determinano una emolisi più marcata, prevalentemente intravascolare (tab. III, fig 2. cap. 2) (1). La presenza di autoanticorpi di classe IgM freddi può essere rivelata molto semplicemente con il test dell'autoagglutinazione a 20 °C con il quale si evidenzia macroscopicamente l'aggregazione spontanea delle emazie a temperatura ambiente; in questo caso è importante eseguire il prelievo "a caldo" e mantenere il campione a 37°C durante l'invio al laboratorio. E' importante ricordare che un terzo delle AEA DAT+ in età pediatrica è costituito dall'emoglobinuria parossistica a frigore causata dall'emolisina bifasica di Donath-Landsteiner, un autoanticorpo che sensibilizza i globuli rossi a freddo ma ne determina l'emolisi a 37°C (tab.III, Cap.2) (5-7).

La ricerca di anticorpi adesi alle emazie (DAT) deve essere affiancata dalla ricerca di anticorpi irregolari nel siero (IAT). In caso di positività è necessario procedere alla identificazione della specificità dell'autoanticorpo: nelle AEA da IgG "calde" gli autoanticorpi sono solitamente diretti contro antigeni del sistema Rh, nelle forme "fredde" contro gli antigeni eritrocitari I/i, mentre nella emoglobinuria parossistica a frigore essi sono solitamente anti-P (vedi tab III, fig 1 e 2, cap 2) (8). Va ricordato che l'IAT può essere positivo anche in presenza di alloanticorpi, riscontrabili nel 34% dei casi di AEA (9-14), oltre che in diverse altre condizioni di alloimmunizzazione (trasfusioni, gravidanze, etc). Infine, in caso di IAT negativo sul siero del paziente, è opportuno ripetere la ricerca e la eventuale identificazione sull'eluato delle emazie. Nel caso in cui l'IAT/eluato si confermino negativi è opportuno considerare una AEA farmaco-indotta (fig.1).

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ Nel caso il DAT di screening con siero polispecifico risulti positivo, si raccomanda l'uso di antisieri monospecifici anti-IgG e anti-C3 al fine di caratterizzare il tipo sierologico di AEA **8,8 - A**
- ◆ In caso di AEA "accertata o sospetta" con emolisi intravascolare, indipendentemente dal risultato del DAT (DAT negativo e/o DAT positivo per IgG e/o C3d) si raccomanda la ricerca delle emolisine bifasiche di Donath-Landsteiner **8,8 - A**
- ◆ Si raccomanda di affiancare al DAT l'esecuzione dell'eluato e di effettuare la ricerca di anticorpi irregolari (IAT) nel siero e nell'eluato, e in caso di positività, di procedere alla loro identificazione. **8,7 - A**

Le AEA DAT negative

Una quota di AEA non viene diagnosticata con il DAT comunemente usato (AEA DAT-negative), con una frequenza che varia in letteratura dal 3% dei lavori anteriori al 1980 al 21% degli studi più recenti, mediamente l'11% delle AEA da IgG secondo Petz e Garratty (1). Tali casi possono essere diagnosticati con metodiche più sensibili, in grado di rilevare un numero inferiore di IgG adese alle emazie rispetto alle indagini di screening, che non sono tuttavia di routine. Si ricordano la citofluorimetria, in grado di rilevare anche 30-40 molecole di IgG/GR (15), i test immunoenzimatici (16-18) e immunoradiometrici (19), il "complement-fixing antibody consumption test" (20), e il test dopo stimolazione mitogenica in coltura (MS-DAT) (21).

Un'altra possibile causa di negatività del DAT di screening è la presenza di autoanticorpi di sola classe IgA, in quanto il contenuto di immunoglobuline anti-IgA nei sieri polispecifici non è standardizzato; tali casi possono essere diagnosticati mediante l'utilizzo di sieri monospecifici anti-IgA (1,22). Inoltre, va ricordato che il DAT può essere falsamente negativo per la presenza di autoanticorpi a bassa affinità, che verrebbero allontanati durante i lavaggi (tube test); il rimedio consiste nei lavaggi a freddo, con mezzi a bassa forza ionica (LISS), e/o nell'uso di polietilenglicole (PEG) (23,24).

Esiste comunque sempre una quota di AEA che non vengono evidenziate dai singoli DAT, anche se eseguiti con tecniche più moderne. **La diagnosi di AEA DAT negativa presuppone l'esclusione delle altre cause di emolisi non immunomEDIATE elencate nella tabella II.**

E' quindi sempre valida l'asserzione di Garratty secondo il quale **nessun DAT singolo è ottimale, e solo una batteria di test può rappresentare un approccio efficiente** alla diagnosi delle AEA DAT-negative.

Va comunque sempre considerata la diagnosi differenziale verso altre anemie emoliche non immuno-mediate (tab.II, fig.1).

Tabella II. Anemie emolitiche non immuno-mediate

Forme congenite	<ul style="list-style-type: none"> • sferocitosi e altri difetti delle proteine di membrana eritrocitaria • deficit enzimi eritrocitari • anemie diseritropoietiche • emoglobinopatie • malattia di Wilson
Anemie emolitiche da cause meccaniche	<ul style="list-style-type: none"> • valvole cardiache sintetiche, emoglobinuria da marcia, bypass cardiopolmonare
Anemie emolitiche da danno vascolare	<ul style="list-style-type: none"> • AE microangiopatica • porpora trombotica trombocitopenica • sindrome uremico emolitica • coagulazione intravascolare disseminata • malformazioni arterovenose
Anemie emolitiche da danno termico	<ul style="list-style-type: none"> • ustioni estese
Anemie emolitiche da cause chimiche	<ul style="list-style-type: none"> • agenti chimici, solventi, cloruro di metile, piombo, idrogeno arsenicale • veleno di alcuni serpenti
Anemie emolitiche da agenti infettivi	<ul style="list-style-type: none"> • Batteri (Mycoplasma Pneumoniae, Clostridium Welchii) • Virus (Cytomegalovirus, Herpes Virus) • Protozoi (Plasmodi)

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ In caso di DAT di screening negativo, escluse altre cause di emolisi (vedi tabella II), e persistendo il sospetto di AEA atipica, si raccomanda di eseguire indagini supplementari che includono l'uso di antisieri monospecifici anti-IgA e di mezzi a bassa forza ionica e potenzianti **8,7 - B**
- ◆ In caso di negatività delle suddette indagini considerare l'uso di metodiche più sensibili di terzo livello, fra cui la citofluorimetria, i test immunoenzimatici, il test dopo stimolazione mitogenica in coltura (MS-DAT). **8,3 - B**

AEA da IgM “calde”

Un altro problema nella diagnostica delle AEA è rappresentato dalle **forme atipiche da IgM “calde”**. Queste forme sono caratterizzate da una **emolisi più grave con esito infausto nel 25% dei casi** (25), la gravità clinica essendo dovuta all'agglutinazione spontanea delle emazie in vivo a seguito del cross-linking delle IgM. Esse sono spesso di **difficile inquadramento**, in quanto il DAT è positivo per C3 o meno frequentemente IgG e C3 per cui spesso vengono scambiate per una forma fredda o mista. Inoltre alcuni casi possono risultare

negativi al DAT tradizionale, con ritardo diagnostico e di trattamento. E' stato recentemente proposto un DAT doppio (Dual Direct Antiglobulin Test, DDAT) capace di evidenziare la presenza di autoanticorpi IgM caldi deboli o non agglutinanti (26).

Raccomandazione

Provvedimento appropriato

- ◆ In caso di forme particolarmente gravi con segni di agglutinazione in vivo e DAT positivo per C3 o negativo considerare l'esecuzione del Dual Direct Antiglobulin Test (DDAT) per evidenziare le forme atipiche da IgM "calde" **8,3 - B**

AEA farmaco-indotte

Le anemie immunoemolitiche farmaco-indotte rappresentano secondo Petz & Garratty il 10% delle anemie emolitiche DAT positive e meritano particolare menzione perché **sottostimate** e di **diagnosi molto critica** (1). Da un punto di vista sierologico, l'anticorpo farmaco-indotto viene distinto in "farmaco-indipendente" se può essere evidenziato con le comuni tecniche di ricerca anticorpale (IAT), e "farmaco-dipendente" se per essere evidenziato necessita la presenza del farmaco nel sistema di reazione (meccanismo da immunocomplesso, DAT positivo per C) o del pretrattamento degli eritrociti col farmaco (aptene/formazione di neoantigene, DAT positivo per IgG) (1,27).

Raccomandazione

Provvedimento appropriato

- ◆ In caso di AEA DAT-positiva ma TAI-negativa nel siero ed eluato, associata a recente assunzione di farmaci, considerare la possibilità di anemia immunoemolitica da farmaci **8,8 - A**

La figura 1 illustra mediante flow chart il percorso diagnostico sopra descritto

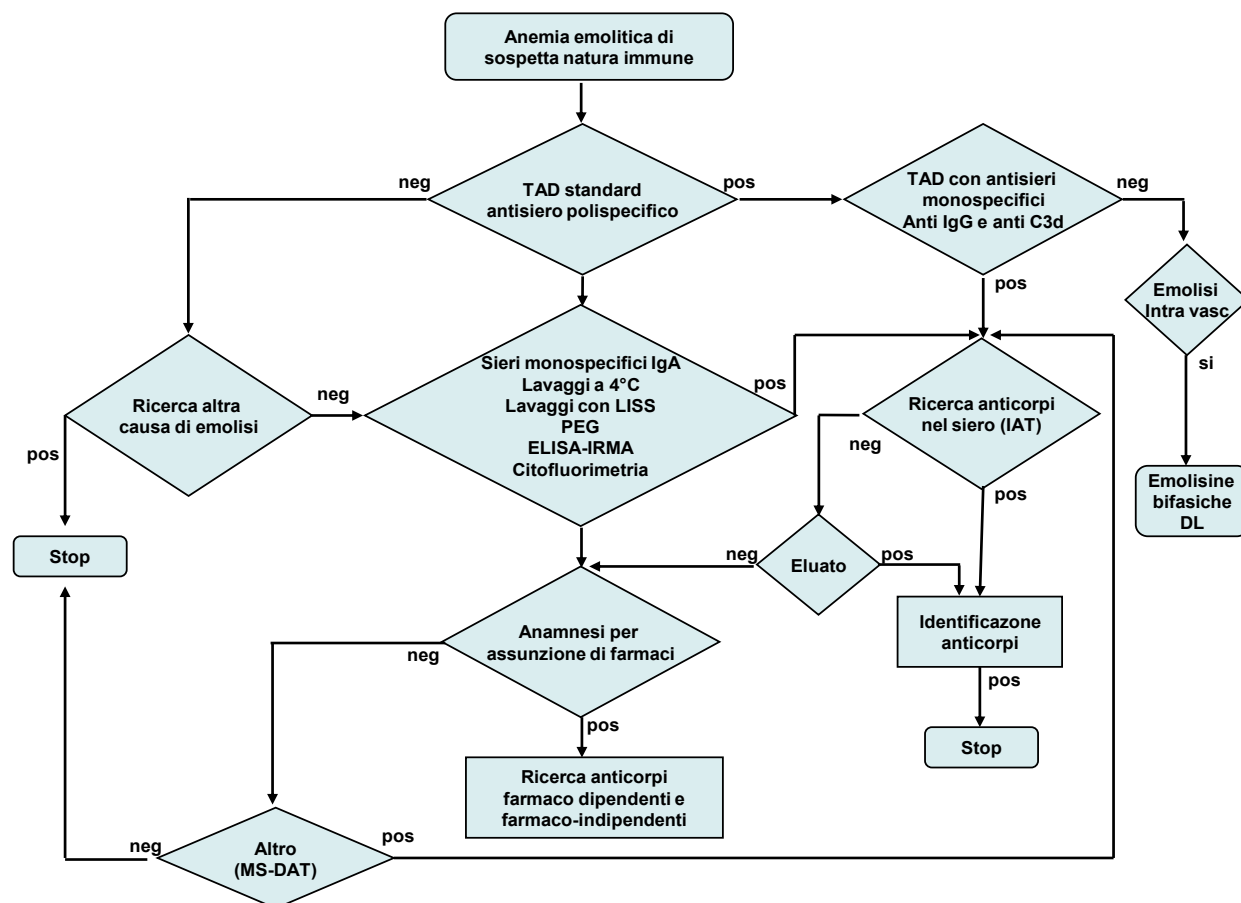


Fig.1. Diagramma di flusso del percorso diagnostico (NR = Non Risposta; RC = Risposta completa; RP = Risposta parziale)

Bibliografia

1. Petz LD and Garratty G. Immune hemolytic anemias. New York: Churchill Livingstone, 2004. (AP-V).
2. Nathalang O, Chuansumrit A, Prayoonwiwat W, Siripoonya P, Sriphaisal T. Comparison between the conventional tube technique and the gel technique in direct antiglobulin tests. Vox Sang. 1997;72:169-71. (AP-V)
3. Novaretti MC, Jens E, Pagliarini T, Bonifacio SL, Dorlhiac-Llacer PE, Chamone DA. Comparison of conventional tube test technique and gel microcolumn assay for direct antiglobulin test: a large study. J Clin Lab Anal. 2004;18:255-8. (AP-V)
4. Barcellini W, Revelli N, Imperiali FG, Villa MA, Manera MC, Paccapelo C, Zaninoni A, Zanella A. Comparison of traditional methods and mitogen-stimulated direct antiglobulin test for detection of anti-red blood cell autoimmunity. Int J Hematol. 2010 Jun;91(5):762-9. (A-V)
5. Götsche B, Salama A, Mueller-Eckhardt C. Donath-Landsteiner autoimmune hemolytic anemia in children. A study of 22 cases. Vox Sang. 1990;58:281-6. (P-V)

6. Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R. The pathology of autoimmune haemolytic anaemia. *J Clin Pathol.* 1992;45:1047-52. (Review)
7. Vaglio S, Arista MC, Perrone MP, Tomei G, Testi AM, Coluzzi S, Girelli G. Autoimmune hemolytic anemia in childhood: serologic features in 100 cases. *Transfusion.* 2007;47:50-4. (P-V)
8. Levine P, Celano MJ, Falkowski F. The specificity of the antibody in paroxysmal cold hemoglobinuria (P.C.H.) *Transfusion.* 1963;3:278-80.
9. Issitt PD, Pavone BG, Goldfinger D, Zwikder H, Issitt CH, Tessel JA, Kroovand SW, Bell CA. Anti-Wrb, and other autoantibodies responsible for positive direct antiglobulin tests in 150 individuals. *Br J Haematol.* 1976;34:5-18. (A-V)
10. Wallhermfecht MA, Pohl BA, Chaplin H. Alloimmunization in patients with warm autoantibodies. A retrospective study employing three donor alloabsorptions to aid in antibody detection. *Transfusion.* 1984;24:482-5.
11. Laine ML, Beattie KM. Frequency of alloantibodies accompanying autoantibodies. *Transfusion.* 1985;25:545-6.
12. Leger RM, Garratty G. Evaluation of methods for detecting alloantibodies underlying warm autoantibodies. *Transfusion.* 1999;39:11-6.
13. Branch DR, Petz LD. Detecting alloantibodies in patients with autoantibodies. *Transfusion* 1999;39:6-10. (Editoriale)
14. Shirey RS, Boyd JS, Parwani AV, Tanz WS, Ness PM, King KE. Prophylactic antigen-matched donor blood for patients with warm autoantibodies: an algorithm for transfusion management *Transfusion* 2002; 42: 1435-1441. (A-V)
15. Lin JS, Hao TC, Lyou JY, Chen YJ, Liu HM, Tzeng CH, Chiou TJ. Clinical Application of a flow cytometric direct antiglobulin test. *Transfusion.* 2009;49:1335-46. (AP-V)
16. Leikola J, Perkins HA. Enzyme-linked antiglobulin test: an accurate and simple method to quantify red cell antibodies. *Transfusion* 1980;20:138-44.
17. Kiruba R, Han P. Quantitation of red cell-bound immunoglobulin and complement using enzyme-linked antiglobulin consumption assay. *Transfusion* 1988;28:519-24.
18. Bencomo AA, Diaz M, Alfonso Y, Valdes Valdés O, Alfonso ME. Quantitation of red cell-bound IgG, IgA, and IgM in patients with autoimmune hemolytic anemia and blood donors by enzyme-linked immunosorbent assay. *Immunohematology.* 2003;19:47-53.
19. Jeje MO, Blajchman MA, Steeves K, Horwood P, Kelton JG. Quantitation of red cell-associated IgG using an immunoradiometric assay. *Transfusion* 1984;24:473-6.
20. Gilliland BC, Leddy JP, Vaughan JH. The detection of cellbound antibody on complement-coated human red cells. *J Clin Invest* 1970;49:898-906.
21. Barcellini W, Clerici G, Montesano R, Taioli E, Morelati F, Rebutta P, Zanella A. In vitro quantification of anti-red blood cell antibody production in idiopathic autoimmune haemolytic anaemia: effect of mitogen and cytokine stimulation. *Br J Haematol.* 2000;111:452-60. (A-V)
22. McGann PT, McDade J, Mortier NA, Combs MR, Ware RE. IgA-mediated autoimmune hemolytic anemia in an infant. *Pediatr Blood Cancer.* 2011;56:837-9. (P-V)
23. Yamada C, Serrano-Rahman L, Vasovic LV, Mohandas K, Uehlinger J. Antibody identification using both automated solid-phase red cell adherence assay and a tube polyethylene glycol antiglobulin method. *Transfusion.* 2008;48:1693-8.
24. Winters JL, Richa EM, Bryant SC, Tauscher CD, Bendix BJ, Stubbs JR. Polyethylene glycol antiglobulin tube versus gel microcolumn: influence on the incidence of delayed hemolytic transfusion reactions and delayed serologic transfusion reactions. *Transfusion.* 2010;50:1444-52.
25. Arndt PA, Leger RM, Garratty G. Serologic findings in autoimmune hemolytic anemia associated with immunoglobulin M warm autoantibodies. *Transfusion.* 2009;49:235-42. (AP-V)
26. Bartolmäs T, Salama A. A dual antiglobulin test for the detection of weak or nonagglutinating immunoglobulin M warm autoantibodies. *Transfusion.* 2010;50:1131-4. (A-V)
27. Garratty G. Drug-induced immune hemolytic anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2009:73-9. (Review)

6. TERAPIA TRASFUSIONALE

Pazienti affetti da AEA possono presentare un'anemia di gravità tale da rendere assolutamente necessario il ricorso alla trasfusione di concentrati eritrocitari; tuttavia la struttura trasfusionale molto spesso si trova in difficoltà nel reperire sangue compatibile, dato che gli **autoanticorpi eritrocitari reagiscono in vitro altrettanto bene con le emazie dei donatori**. Inoltre, in vivo tali autoanticorpi si rendono responsabili della distruzione delle emazie trasfuse, con **esacerbazione del processo emolitico** (1).

Un altro problema è rappresentato dalla frequenza con cui pazienti con autoimmunizzazione eritrocitaria presentano anche **alloimmunizzazione**: i dati della letteratura mostrano un' **incidenza fino al 32%** (2-4). Purtroppo la evidenziazione in laboratorio della presenza di alloanticorpi è particolarmente difficoltosa a causa delle reazioni di agglutinazione degli autoanticorpi che mascherano la reattività dovuta ad eventuali alloanticorpi, frutto di precedenti stimolazioni immunologiche. Gli alloanticorpi eventualmente presenti e non identificati sono in grado di causare gravi reazioni emolitiche acute nel ricevente.

Va inoltre ricordato che **la trasfusione**, seppur effettuata in emergenza, **può rappresentare un'occasione per indurre alloimmunizzazione nel paziente** non precedentemente stimolato, in considerazione del fatto che questa tipologia di malati si presenta con una condizione di iperreattività immunologica. Pertanto, nel caso in cui si decida di trasfondere, **deve essere assolutamente evitato il carico trasfusionale: piccoli volumi sono sufficienti per alleviare la sintomatologia clinica e le possibili complicanze** (5). La trasfusione con concentrati eritrocitari nel paziente con autoimmunizzazione eritrocitaria **va riservata ai casi di anemia grave, ad alto rischio e con compromissione dei parametri vitali**, considerando che è difficile stabilire in maniera inequivocabile il trigger trasfusionale sulla base del valore dell'emoglobina. Occorre tener presente che il bambino è in grado di sopportare gradi spinti di anemia, meglio del paziente adulto; alcuni autori suggeriscono un valore limite di Hb ~ 4 g/dL, livello che può essere ben tollerato, in assenza di fattori di rischio, soprattutto nei casi in cui sia stato raggiunto gradualmente (6).

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- | | |
|--|----------------|
| ◆ La trasfusione di emazie nel paziente affetto da anemia emolitica autoimmune non deve essere effettuata se non in presenza di compromissione dei parametri vitali | 8,5 - C |
| ◆ In considerazione delle difficoltà interpretative dei test pre-trasfusionali si raccomanda di inviare tempestivamente alla struttura trasfusionale i campioni di sangue del paziente (per una corretta attribuzione del fenotipo eritrocitario ed evidenziazione di eventuali alloanticorpi mascherati da autoanticorpi) | 8,5 - B |
| ◆ Per migliorare l'efficacia terapeutica della trasfusione e prevenire l'alloimmunizzazione eritrocitaria si suggerisce di effettuare in previsione di eventuale supporto trasfusionale una tipizzazione eritrocitaria estesa | 8,6 - B |

comprendente almeno gli antigeni: C, c, D, E, e, K, Jka, Jkb, Fya, Fyb, S, s, preferibilmente con metodica molecolare. La tipizzazione eritrocitaria estesa consente di effettuare un “perfect match”.

- ◆ Si raccomanda di trasfondere quantità sufficienti a migliorare i sintomi (indicativamente 3-5 ml/Kg, inferiori alla dose standard) al fine di ridurre le complicanze del sovraccarico e dell'incompatibilità **8,6 - B**
- ◆ I concentrati eritrocitari impiegati per la trasfusione devono essere leucodepleti, preferibilmente pre-storage **8,8 - A**
- ◆ L'infusione di concentrati eritrocitari deve essere effettuata lentamente e sotto stretta vigilanza e comunque entro l'intervallo massimo consentito di 4 ore **8,5 - B**

Bibliografia

1. Barros MMO, Blajchman MA, Bordin JO. Warm autoimmune hemolytic anemia : recent progress in understanding the immunobiology and the treatment. *Transfusion Medicine Reviews*. 2010; 24: 195-210. (Review)
2. Branch DR, Petz LD. Detecting alloantibodies in patients with autoantibodies. *Transfusion* 1999;39:6-10 (Editoriale)
3. Shirey RS, Boyd JS, Parwani AV, Tanz WS, Ness PM, King KE. Prophylactic antigen-matched donor blood for patients with warm autoantibodies: an algorithm for transfusion management *Transfusion* 2002; 42: 1435-1441. (A-V)
4. Coluzzi S, De Nicolò MC, Arista MC, Neri A, Taralli S, Mauro FR, Armiento D, Vaglio S, Girelli G. Anemia emolitica autoimmune: aspetti sierologici e clinici in 596 pazienti. *Il Servizio Trasfusionale*. 2009; 4: 6-17. (AP-V)
5. King KE, Ness PM. Treatment of autoimmune hemolytic anemia. *Seminars in Hematology*. 2005;42:131-136. (Review)
6. Ness PM. How do I encourage clinicians to transfuse mismatched blood to patients with autoimmune hemolytic anemia in urgent situations? *Transfusion* 2006; 46: 1859-1862. (Review)

7. PLASMA EXCHANGE

I dati clinici relativi all'utilizzo di Plasma Exchange nelle AEA del bambino sono limitati a case reports che nella maggior parte dei casi riportano esiti positivi (1-5) mentre mancano studi clinici sistematici. Il razionale dell'utilizzo del Plasma Exchange è quello di **rimuovere gli immunocomplessi circolanti, i componenti attivati del complemento e gli autoanticorpi circolanti**. E' stimato che ogni procedura, in mani esperte, possa rimuovere fino al 65% degli autoanticorpi circolanti (soprattutto se IgM, meno se IgG per il richiamo in circolo dal comparto extravascolare). Il wash-out che segue la procedura è parziale e **si rendono quindi necessarie ripetute procedure**. Il trattamento aferetico è da considerare una **tecnica da impiegare nelle situazioni estreme**, in concomitanza con terapia immunosoppressiva aggressiva (6).

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ Il Plasma Exchange è una opzione terapeutica estrema da considerare nei casi più gravi di AEA, con emolisi rapidamente progressiva, reticolocitopenia e/o con mancata risposta alla terapia trasfusionale e farmacologica **8,0 - C**
- ◆ Il Plasma Exchange è da prendere in considerazione come alternativa alla splenectomia in urgenza **7,2 - C**

Bibliografia

1. Lucchini G, Masera N, Foti G, Assali G, Perseghin P, Biagi E. A life threatening paediatric case of acute autoimmune haemolytic anemia (AIHA) successfully cured by plasma exchange and combined immunosuppressive treatment. Transfusion and Apheresis Science. 2009;40:115-118. (P-V)
2. Beretta C, Leoni V, Rossi MR, Jankovic M, Patronati N, Foti G, Biagi E. Prolonged extracorporeal membrane oxygenation therapy for severe acute respiratory distress syndrome in a child affected by rituximab-resistant autoimmune hemolytic anemia: a case report. J of Med Case Reports. 2009;3:6443. (P-V)
3. Roy-Burman RA, Glader BE. Resolution of severe Donath Landsteiner autoimmune haemolytic anemia temporally associated with institution of plasmapheresis. Crit care Med. 2002; 30:931-4. (P-V)
4. Mc Carthy IJ, Danielson CFM, Fernandez C et al. Intensive plasma-exchange for severe autoimmune hemolytic anemia in a four months-old infant. J. Clinical Apheresis 1999; 14:190-2. (P-V)
5. Gupta S, Szerszen A, Nakhl F, Varma S, Gottesman A, Forte F, Dhar M. Severe refractory autoimmune hemolytic anemia with both warm and cold autoantibodies that responded completely to a single cycle of rituximab: a case report. J Med Case Reports. 2011; 5:156. (A-V)
6. Szczepiorkowski ZM, Winters JF et al. Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice-Evidence-Based Approach from the Apheresis Applications Committee of the American Society for Apheresis. Journal of Clinical Apheresis. 2010;25:83-177. (Linee Guida)

8. TERAPIA DI PRIMA LINEA DELLA AEA DA ANTICORPI CALDI

Criteri di risposta

Preliminarmente alla trattazione della terapia, sono definiti i criteri di risposta

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ Si definisce risposta completa il raggiungimento di Hb \geq limite inferiore normale per età e assenza di indici di emolisi **8,9 - A**
- ◆ Si definisce risposta parziale la condizione caratterizzata da incremento di Hb rispetto ad esordio ≥ 2 g/dl e Hb $<$ limite inferiore per età **8,5 - B**
- ◆ Si definisce risposta assente la condizione caratterizzata dall'incremento di Hb rispetto ad esordio < 2 g/dl e/o dipendenza dalle trasfusioni **8,4 - B**

Terapia steroidea

Nell'epoca della "evidence based medicine", è sorprendente che la terapia della AEA sia ancora basata non sull'evidenza, ma sull'esperienza. Infatti, nonostante l'uso dei corticosteroidi sia universalmente accettato per l'AEA, e in particolare per le forme da anticorpi caldi di classe IgG, sin dalla prima descrizione, avvenuta più di 50 anni fa (1), tale uso non è stato mai supportato da evidenze derivanti da trial clinici.

Meccanismo d'azione degli steroidi

I glucocorticoidi sono efficaci farmaci anti-infiammatori e potenti agenti immunosoppressivi. La farmacologia dei glucocorticoidi è molto complessa ed è oggetto di continui studi, nel tentativo di chiarire i meccanismi attraverso i quali sono esercitate queste attività.

Sintetizzando i loro meccanismi d'azione, i glucocorticoidi penetrano nella cellula e si legano al loro recettore citoplasmatico, che rilascia un gruppo molecolare tra cui le "heat shock proteins" e altre proteine con attività kinasica. Questo complesso macromolecolare determina una serie di effetti rapidi non-trascrizionali, ovvero non correlati all'interazione con il genoma, il cui ruolo non è stato ancora completamente definito. Inoltre, il complesso glucocorticoide-GR penetra nel nucleo e interagisce con il DNA attivando o inibendo la trascrizione genica, responsabile dei principali effetti farmacologici dei glucocorticoidi. In particolare, il complesso Glucocorticoide-Recettore è in grado di bloccare la via del NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), una proteina complessa che rappresenta un fattore di trascrizione: probabilmente, la maggior parte delle azioni anti-infiammatorie sono identificabili a questo livello.

Studi su modelli animali dimostrano che gli steroidi aumentano la sopravvivenza delle emazie sensibilizzate con IgG e IgM riducendo la sequestrazione splenica ed epatica (2-3). Si ritiene

che essi inibiscano la clearance, mediata dal recettore Fc, degli eritrociti sensibilizzati, che spiegherebbe l'effetto terapeutico che si osserva nelle prime 24-48 ore dall'inizio della somministrazione; inoltre i corticosteroidi inibiscono la sintesi degli autoanticorpi, il cui effetto richiede alcune settimane (4-5).

Evidenze di letteratura sull'uso degli steroidi a dosaggio standard

Le evidenze disponibili sull'efficacia degli steroidi sono molto poche e sono riassunte in tabella I. Globalmente si può affermare che **l'efficacia dei corticosteroidi nell'indurre una risposta clinica è dell'80-85%**.

Tuttavia, viene riportata una percentuale elevata di pazienti che recidivano alla sospensione del trattamento steroideo.

Cercando di individuare i fattori che possono influenzare l'esito della risposta al trattamento, è stato riportato che esiste una correlazione positiva tra recidiva e aumento dell'intervallo di tempo intercorso dalla comparsa dei sintomi e l'inizio del trattamento, cioè **l'inizio più precoce della terapia steroidea assicura una minore probabilità di recidiva** (6-7). Questo fenomeno è stato segnalato dallo stesso gruppo di autori in due casistiche, una esclusivamente pediatrica (7) e una mista di bambini e adulti (6).

Un altro fattore che sembra influenzare l'incidenza di recidiva è la durata del periodo di mantenimento con steroidi a basso dosaggio: è descritto che una **riduzione più graduale e duratura del dosaggio steroideo è correlata ad una minore incidenza di recidiva**, per cui Dussadee *et al* concludono che un periodo di riduzione della terapia steroidea debba durare almeno 6 mesi (11).

Tabella I. Evidenze di letteratura sull'efficacia degli steroidi nella AEA

N pazienti studiati	Idiopatica/secondaria	Età (media)	Terapia	N. pazienti responsivi (%)	N. pazienti recidivati (%)	Anno pubblicazione (voce bibliografica)	Livello evidenza
79	52/27	30.5	Predn os	69 (87%)	6 (9%)	2006 (6)	AP-V
26	17/9	11	Predn os	21 (81%)	4 (19%)	2007 (7)	P-V
12	9/3	4.5	Predn os	10(83%)	4 (33%)	2008 (8)	P-V
44	29/15	48	?	37(84%)	25/33 (75%)	1967 (9)	A-V
7 cronici	5/2	33-72	DXM pulse*	7 (100)**		1997 (10)	A-V

*40 mg DXM os /ev x 4 gg ogni 28 gg x 6 cicli

** 1/7 in remissione completa persistente; gli altri 6 in remissione completa o parziale transitoria soltanto durante il trattamento

Evidenze di letteratura sull'uso degli steroidi ad alte dosi

La terapia con steroidi ad alte dosi per l'anemia emolitica autoimmune è descritta in letteratura essenzialmente sotto forma di "case reports" (12-16).

Da tali reports si evince come le alte dosi siano impiegate essenzialmente per casi complessi come quelli di sindrome di Evans (12,13) e che, nonostante la risposta migliore alla terapia steroidea in generale si riscontri nella forma ad anticorpi caldi, la terapia steroidea e.v. anche a "pulse" può essere utile nella malattia da agglutinine fredde (14-16).

Il farmaco più utilizzato è il metilprednisolone a dosi variabili da 10 a 30 mg/Kg/die in 1-4 somministrazioni giornaliere. In genere le dosi più alte sono riservate ai casi più gravi e comunque nelle fasi iniziali per non più di 72h. Nella pratica clinica l'uso ev della terapia steroidea è generalmente accettato quando si desidera un effetto molto rapido o quando, per particolari motivi, è necessaria la somministrazione parenterale.

I prodotti in commercio a base di metilprednisolone non riportano tra le indicazioni specifiche l'AEA e nelle autorizzazioni di immissione al commercio si sottolinea che **nella primissima infanzia il prodotto va somministrato in caso di effettiva necessità** e sotto il diretto controllo medico e che quelli **contenenti alcool benzilico non devono essere somministrati ai bambini al di sotto dei 2 anni**. Inoltre sebbene gli effetti collaterali associati alla terapia con steroide a dose elevata per breve termine siano rari, si può verificare un'ulcera peptica. Può essere indicata una terapia anti-acida profilattica.

Terapia con IG ev

Le Immunoglobuline ev sono state usate in concomitanza all'uso degli steroidi (17).

Flores *et al.* in una revisione di 73 casi di AEA concludono che **il trattamento con alte dosi di Ig ev (0.4-0.5 g/kg per 5 gg) è efficace nel 39.7% dei pazienti** (18). In particolare **l'efficacia nei bambini è superiore, pari al 54.5%**. Inoltre i pazienti con bassi livelli di emoglobina e con epatomegalia hanno una risposta clinica migliore.

Le altre segnalazioni della letteratura si riferiscono a singoli casi clinici (19-23).

La limitatezza dei dati disponibili non consente di raccomandare le IG ev nell'impiego di routine del trattamento in fase acuta o cronica di AEA. Tuttavia **il loro uso può essere preso in considerazione nel trattamento dell'AEA in grave pericolo di vita** (24).

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- | | |
|---|----------------|
| ◆ I corticosteroidi costituiscono la prima scelta terapeutica in tutti i casi di AEA di tipo caldo. La terapia iniziale prevede l'uso del prednisone per os alla dose di 1-2 mg/kg/die, suddiviso in 2-3 somministrazioni giornaliere | 8,6 - B |
| ◆ Nei casi di scarsa compliance alla somministrazione orale, si può utilizzare il metil-prednisolone e.v. (0.8-1.6 mg/kg/die mPDN) suddiviso in 2-3 somministrazioni giornaliere (equivalenza mPDN ev = dosaggio PDN os X 0.8) | 8,6 - B |
| ◆ Nei casi gravi può essere indicata una terapia d'attacco per le prime 24-72 ore, fino a stabilizzazione del paziente, con metil-prednisolone e.v. alla dose di 1-2 mg/kg ogni 6-8 ore | 7,9 - C |
| ◆ L'uso degli steroidi ad alte dosi non è raccomandato | 7,1 - D |
| ◆ Le I.g. ev possono essere prese in considerazione come terapia aggiuntiva alla terapia steroidea, nei casi più gravi | 7,8 - B |
| ◆ La durata della terapia d'attacco (sia PDN per os ovvero m-PDN ev + PDN per os) è minimo 4 settimane nelle forme responsive | 8,6 - B |

- ◆ Se a 3 settimane non si è verificata alcuna risposta terapeutica occorre riconsiderare una diagnosi differenziale e il paziente va avviato ad una terapia di seconda linea **8,6 - A**
- ◆ Se a 4 settimane la risposta è completa, si può iniziare a scalare lo steroide **8,8 - B**
- ◆ Se a 4 settimane la risposta è parziale, si continua altre 2 settimane a dosaggio pieno. Dopo 6 settimane la terapia steroidea comunque va scalata **8,4 - B**
- ◆ Una volta raggiunta la risposta la terapia steroidea va scalata gradualmente ma non va sospesa prima di 6 mesi **7,8 - C**
- ◆ Modalità di riduzione della terapia steroidea: il dosaggio pieno va scalato del 25-50% nell'arco di 4 settimane; successivamente la riduzione deve essere graduale, in modo da protrarre la terapia per almeno 6 mesi **7,8 - C**
- ◆ Se durante la riduzione dello steroide si assiste alla ripresa o esacerbazione dell'emolisi, il dosaggio va riportato e mantenuto al livello precedente **8,2 - C**

Provvedimento di appropriatezza incerta

- ◆ Quando iniziare una terapia steroidea
 - a. la terapia è indicata in tutti i casi in cui viene posta la diagnosi di AEA, anche in assenza di sintomatologia grave e va iniziata il più presto possibile* **4,9 - D**
 - b. la terapia è indicata nei casi in cui viene posta la diagnosi di AEA. Il trattamento farmacologico può essere omissso nei casi più lievi (Hb stabilmente tra 9 e 12 g/dl), soprattutto se l'anamnesi è positiva per recenti episodi infettivi* **6,6 - D**

*Confronto tra due differenti indicazioni per iniziare la terapia steroidea all'esordio di una AEA

Item	N	Mean±SD	Median (min-max)	p-value
a	22	4.818±3.080	4.5 (1-9)	0.156
b		6.542±2.874	8 (1-9)	

P-value from Wilcoxon signed rank test

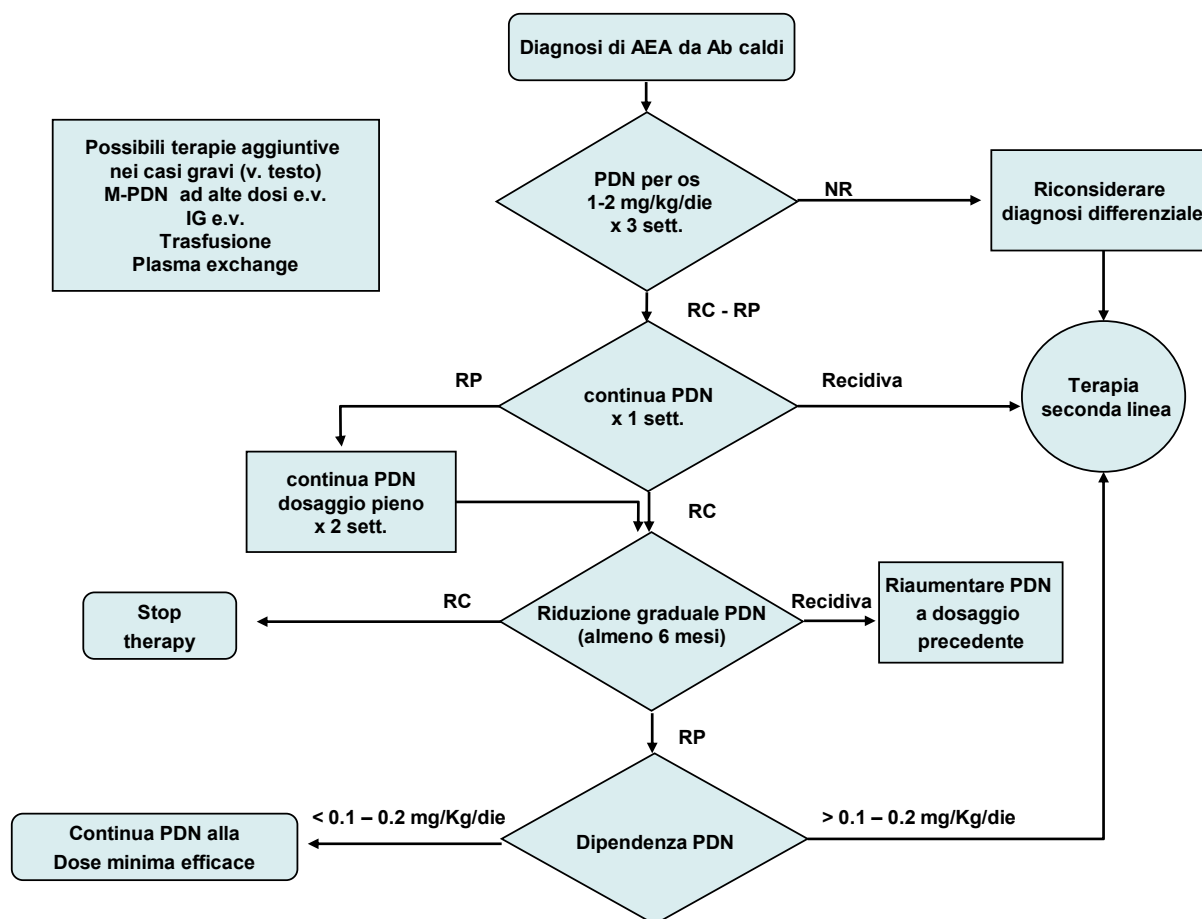


Fig.1: Percorso terapeutico nella terapia di prima linea delle AEA da anticorpi caldi (NR = Non Risposta; RC = Risposta completa; RP = Risposta parziale)

Indicazioni alla terapia di seconda linea

Indicazioni alla terapia di II linea sono la **non risposta alla terapia di I linea e la dipendenza dalla terapia steroidea**.

Raccomandazioni

Provvedimento appropriato

- ◆ Indicazione alla terapia di seconda linea è la mancata risposta alla terapia di prima linea **9,0 - A**

Provvedimento di appropriatezza incerta

- ◆ Indicazione alla terapia di seconda linea è la dipendenza dalla terapia steroidea per mantenere una risposta accettabile al termine della terapia di prima linea (Hb > 9 g/dl)
 - a. necessità di mantenere la terapia steroidea a dose superiore a 0.1 mg/kg/die di prednisone* **5,3 - D**
 - b. necessità di mantenere la terapia steroidea a dose superiore a 0.2 mg/kg/die di prednisone* **6,3 - D**

*Confronto tra due differenti indicazioni per iniziare la terapia di II linea in una AEA con dipendenza dalla terapia steroidea

Item	N	Mean±SD	Median (min-max)	p-value
a	23	5.280±8.793	4 (1-9)	0.274
b		6.261±8.565	7 (1-9)	

P-value from Wilcoxon signed rank test

Bibliografia

1. Dameshek W, Rosenthal MC, Schwartz LI: The treatment of acquired hemolytic anemia with adrenocorticotrophic hormone (ACTH). N Engl J Med 1951;244:117-127 (A-V)
2. Atkinson JP, Frank MM Complement-independent Clearance of IgG-sensitized Erythrocytes: Inhibition by Cortisone BLOOD . 1974 44:629-37
3. Atkinson JP, Frank MM Studies on the in vivo effects of antibody. Interaction of IgM antibody and complement in the immune clearance and destruction of erythrocytes in man. J Clin Invest. 1974 Aug;54(2):339-48. (A-V)
4. Schreiber AD, Pardons J, McDermott P, Cooper RA. Effect of Corticosteroids on the Human Monocyte IgG and Complement Receptors J Clin Invest 1975 56:1189-1197
5. Fries LF, Brickman CM, Frank MM. Monocyte receptors for the Fc portion of IgG increase in number in autoimmune hemolytic anemia and other hemolytic states and are decreased by glucocorticoid therapy. J Immunol. 1983 Sep;131(3):1240-5.
6. Naithani R, Agrawal N, Mahapatra M, Pati H, Kumar R, Choudhary VP. Autoimmune hemolytic anemia in India: clinico-hematological spectrum of 79 cases. Hematology. 2006 Feb;11(1):73-6. (AP-V)

7. Naithani R, Agrawal N, Mahapatra M, Kumar R, Pati HP, Choudhry VP. Autoimmune hemolytic anemia in children. *Pediatr Hematol Oncol.* 2007 Jun;24(4):309-15. (P-V)
8. Gupta V, Shukla J, Bhatia BD. Autoimmune Hemolytic Anemia. *Ind J Ped* 2008;75:451-4 (P-V)
9. Allgood JW, Chaplin H Jr. Idiopathic acquired autoimmune hemolytic anemia. A review of forty-seven cases treated from 1955 through 1965. *Am J Med.* 1967 Aug;43(2):254-7 (A-V)
10. Meyer O, Stahl D, Beckhove P, Huhn D, Salama A. Pulsed high-dose dexamethasone in chronic autoimmune haemolytic anaemia of warm type. *Br J Haematol.* 1997 Sep;98(4):860-2. (A-V)
11. Dussadee K, Taka O, Thedsawad A, Wanachiwanawin W. Incidence and risk factors of relapses in idiopathic autoimmune hemolytic anemia. *J Med Assoc Thai.* 2010 Jan;93 Suppl 1:S165-70. (A-V).
12. Ozsoylu F. Megadose methylprednisolone for the treatment of patients with Evans syndrome.. *Pediatr Hematol Oncol.* 2004 Dec;21(8):739-40. (V-P).
13. Ozsoylu S. Megadose methylprednisolone for Evans syndrome. *Pediatr Hematol Oncol.* 2000 Dec;17(8):725-6. (V-P)
14. Nanan R, Scheurlen W, Gerlich M, Huppertz HI. Severe low-titer cold-hemagglutinin disease responsive to steroid pulse therapy. *Ann Hematol.* 1995 Aug;71(2):101-2. (V-P)
15. Lahav M, Rosenberg I, Wysenbeek AJ. Steroid-responsive idiopathic cold agglutinin disease: a case report. *Acta Haematol.* 1989;81(3):166-8.
16. Meytes D, Adler M, Viraq I, Feigl D, Levene C. High-dose methylprednisolone in acute immune cold hemolysis. *N Engl J Med.* 1985 Jan 31;312(5):318.
17. Ware RE. Autoimmune hemolytic anemia. In Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood, 7th Edition, Saunders Elsevier, Philadelphia, PA, USA, 2009, pp 613-658
18. Flores G et al: Efficacy of intravenous immunoglobulin in the treatment of autoimmune hemolytic anemia: results in 73 patients. *Am J Hemathol.* 1993; 44: 237-242. (AP-V)
19. Pocecco M, Ventura P et al. High-dose IVIgG in autoimmune hemolytic anemia. *J Pediatr* 1986; 109; 726. (P-V)
20. Bussel JB, Hilgartner MWBr The use and mechanism of action of intravenous immunoglobulin in the treatment of immune haematologic disease. *J Kaematol.* 1984 Jan; 56 (1): 1-7. (Review)
21. Mark E. Wienblatt Treatment of immune hemolytic anemia with gammaglobulin. *J Pediatr* 1987 May; 110 (5): 817-8. (P-V)
22. Hideaki Oda, Akihito Honda et al. High dose intravenous IgG infusion in refractory autoimmune hemolytic anemia (Evans syndrome) *J Pediatric* 1985 Nov. 744-746. (P-V)
23. Otheo E, Maldonado MS, Muñoz A, Hernández-Jodra M High-dose intravenous immunoglobulin as single therapy in a child with autoimmune hemolytic anemia. *Pediatr Hematol Oncol.* 1997 Sep-Oct;14(5):487-90. (P-V)
24. Anderson D, Ali K, Blanchette V, Brouwers M, Couban S, Radmoor P, Huebsch L, Hume H, McLeod A, Meyer R, Moltzan C, Nahirniak S, Nantel S, Pineo G, Rock G. Guidelines on the use of intravenous immunoglobulin for hematologic conditions. *Transfus Med Rev.* 2007 Apr;21(2 Suppl 1):S9-56. (Linee guida)
25. Murphy S, Lo Buglio AF. Drug therapy of autoimmune hemolytic anemia. *Semin Hematol* 1976; 13: 323-334

9. TERAPIA DI SECONDA E SUCCESSIVA LINEA DELLA AEA DA ANTICORPI CALDI

Criteri di recidiva

Preliminarmente alle raccomandazioni terapeutiche viene definita la recidiva di malattia e il trattamento della stessa.

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ Si definisce recidiva di malattia la ricomparsa di anemia e indici di emolisi dopo il raggiungimento della remissione completa **8,2 - B**
- ◆ Nella recidiva di malattia è appropriato il trattamento precedente se la recidiva avviene dopo lo stop therapy **7,6 - C**

La più ampia casistica di AEA in età pediatrica riporta che, su un totale di 265 casi, **il 45% dei bambini necessita di terapie differenti dai corticosteroidi**, utilizzate con modalità ed indicazioni del tutto eterogenee; inoltre dopo il primo mese di trattamento con steroidi, solo il 58% dei bambini è in remissione completa (1). Questo dato mette in luce la necessità di stabilire un percorso condiviso al fine di uniformare il ricorso ai farmaci di seconda linea.

Come già detto alla fine del capitolo 6, vanno avviati a una terapia di seconda linea certamente i pazienti che non rispondono a una terapia di prima linea e i pazienti che, al termine del programma terapeutico steroideo di prima linea necessitano di una terapia con prednisone $\geq 0,1-0,2$ mg/Kg/die per mantenere una risposta accettabile, con Hb > di 9 grammi.

Le possibili strategie terapeutiche sono due:

- Cercare di ottenere una **remissione libera da malattia**, mediante trattamenti farmacologici o splenectomia per i pazienti che non hanno risposto alla terapia di prima linea
- Instaurare una **terapia di mantenimento** che consenta un controllo della sintomatologia con effetti collaterali contenuti. Questa strategia terapeutica, che prevede l'utilizzazione di immunosoppressori risparmiatori di steroidi in pazienti steroide dipendenti, trova **indicazione nei pazienti in buone condizioni generali, in remissione parziale e con un buon valore di Hb, per mantenere lo stato di benessere e controllare l'emolisi permettendo così una riduzione dello steroide e/o la sua definitiva sospensione.**

Rituximab

Rituximab è un anticorpo monoclonale chimerico umanizzato diretto contro l'antigene CD20 espresso dai B linfociti con indicazione nei linfomi non Hodgkin indolenti e aggressivi, nella

leucemia linfatica cronica e nell'artrite reumatoide, dove la sua efficacia è dovuta sia alla deplezione che alla immunomodulazione funzionale dei linfociti B.

Rituximab viene impiegato da molti anni con efficacia nelle forme autoimmuni ematologiche resistenti/refrattarie alla terapia immunosoppressiva convenzionale. In particolare, esso si è dimostrato efficace nelle AEA sia idiopatiche che secondarie a forme linfoproliferative e anche post trapianto di midollo, con una risposta media nel 60% dei casi secondo la revisione di Garvey del 2008 (2) e anche maggiore (77-93% dei casi) negli studi più recenti (3-6). La dose mediamente somministrata è di 375 mg/m²/settimana per 4 settimane; la risposta è indipendente dall'età, dai precedenti trattamenti e dall'associazione con altri farmaci.

Degli oltre 250 pazienti sino ad oggi trattati, 56 erano **bambini** con AEA quasi sempre "calda" (di cui 25 sindromi di Evans) che **hanno risposto nell'84-100% dei casi** (7-11). In particolare, Quartier *et al.* (7) sono stati i primi a segnalare di aver ottenuto la remissione completa in 6/6 bambini affetti da AEA grave refrattaria ai corticosteroidi e, in due casi, alla splenectomia; non sono riferiti effetti collaterali correlati alla infusione né complicanze infettive (7). L'efficacia del rituximab è stata poi confermata da Zecca *et al.* su una serie più ampia di 14 bambini con AEA ("calda" in 13) refrattaria a due o più cicli di terapia immunosoppressiva, dei quali 12 hanno risposto a 3 infusioni del farmaco: durante il follow-up (mediana 15 mesi) tre pazienti sono recidivati dopo 7-10 mesi e sono stati ritrattati con successo (9). Numericamente consistente anche la casistica di Bader-Meunier *et al.* (10), che hanno ottenuto la remissione in 11/17 bambini con sindrome di Evans refrattaria, di cui 7 splenectomizzati, dopo 3-4 dosi standard di rituximab per 3-4 settimane; ad un follow-up medio di 2.4 anni (0.5-7) si sono rilevati effetti collaterali lievi in quattro bambini e complicanze infettive in uno (10).

Complessivamente, dall'analisi della letteratura, costituita per lo più da case reports e da piccole serie e da tre studi clinici non controllati di fase II, si evince che il rituximab:

- è efficace nelle AEA refrattarie sia idiopatiche che secondarie (2,6); negli studi più recenti, con follow-up medio di 15 mesi (range 0.5-62), la risposta globale (ORR) è del 77-93%, e la sopravvivenza libera da malattia (DFS) del 72% a 1 anno e 56% a 2 anni (3-5);
- è efficace e ben tollerato sia nelle forme calde (ORR mediana 84%, CR 54%) che fredde: due studi prospettici nell'adulto dimostrano che rituximab è l'unico trattamento in grado di indurre una risposta nel 45-60% dei casi di sindrome da agglutinine fredde (12,13), a fronte del 15% di sole risposte parziali con terapia convenzionale;
- è efficace (ORR 84-100%, CR 67-100%) e ben tollerato anche nei bambini con AEA refrattaria, inclusa la sindrome di Evans (6,7,9-11); gli effetti collaterali riportati sono solitamente limitati a reazioni di grado 1-2 legate all'infusione, mentre sono rare le tossicità di grado maggiore (2% neutropenia di grado 4, 7% infezioni) (2);
- dati di sicurezza a lungo termine sono ancora necessari, soprattutto considerando i casi di encefalopatia multifocale progressiva e riattivazione del virus dell'epatite segnalati in pazienti oncoematologici (14);
- la risposta è indipendente da precedenti trattamenti (12-16), ed il tempo mediano al raggiungimento della risposta è rispettivamente di 3 e 6 settimane (range 1-16) in due recenti studi (3,5)
- il ritrattamento è efficace, anche se ripetuto (11,16)
- la dose mediana utilizzata è di 375 mg/m²/settimana per 4 settimane (range 2-12) sia in adulti che nei bambini. In uno studio prospettico su adulti basse dosi (100 mg/settimana x 4 settimane) di rituximab associate a terapia steroidea si sono

dimostrate efficaci nell'86% dei casi, consentendo un rapido scalo dello steroide e il mantenimento di risposta sostenuta in tutti i casi a un anno di follow-up (17).

Infine, secondo le più recenti opinioni di esperti disponibili in letteratura relative al trattamento delle AEA calde dell'adulto l'uso del rituximab a dosi standard per 4 settimane viene considerato in termini di rischio-beneficio la migliore opzione per coloro che non sono eligibili per la splenectomia o che la rifiutano (18). Crowther *et al* suggeriscono di considerare rituximab e splenectomia come terapia di seconda linea prima di ogni altra alternativa; in assenza di confronti diretti tra rituximab e splenectomia, pur ammettendo che l'evidenza di letteratura a sostegno dell'uso del rituximab sia più estesa di quanto non lo sia per la splenectomia, lasciano la scelta alla preferenza del paziente ed al giudizio del medico, in rapporto alle specifiche circostanze del caso (19).

Splenectomia

La splenectomia fu introdotta nel trattamento delle anemie emolitiche nel 1911 (20). Prima dell'introduzione della terapia steroidea negli anni '40, essa rappresentava, assieme alle trasfusioni, l'unica forma di trattamento disponibile.

Studi in modelli animali suggeriscono che:

- la splenectomia riduce la sequestrazione degli eritrociti rivestiti da IgG;
- la splenectomia è meno efficace ad elevate concentrazioni di anticorpi, perché gli eritrociti più sensibilizzati sono rimossi prevalentemente dal fegato;
- la splenectomia non sembra modificare la distruzione degli eritrociti rivestiti da IgM;
- la milza produce anticorpi di classe IgG e la sua rimozione può ridurre la sintesi. Tuttavia un significativo numero di pazienti non mostra variazioni nella quantità di anticorpi legati alle emazie dopo splenectomia;
- sia nell'animale che nell'uomo un certo grado di distruzione delle emazie richiede una quantità di IgG 6-10 volte superiore a quanto fosse necessario in precedenza dopo splenectomia.

Efficacia nell'adulto

L'analisi di 8 studi pubblicati, che includono complessivamente 162 pazienti adulti, indica una **buona efficacia nel 45% dei casi** (73 soggetti responsivi) ed una **efficacia parziale nel 22%** (35 soggetti) (21-28). Perciò la splenectomia determinerebbe un **miglioramento più o meno rilevante nel 67% dei casi**, con percentuali di non risposta variabili dallo 0% al 41%.

In generale la percentuale di remissioni parziali o complete a breve termine va dal 38 all'82% dei casi, in rapporto al numero delle forme secondarie (18). L'efficacia della splenectomia sembra infatti essere maggiore nelle forme primitive che in quelle secondarie, perlomeno negli adulti (23).

Gli studi negli animali dimostrano che gli eritrociti sensibilizzati con IgG vengono distrutti quasi esclusivamente a livello splenico, indipendentemente dall'attivazione del complemento (29). In accordo con tale modello i pazienti con anticorpi di classe IgG rispondono meglio alla splenectomia di quanto facciano quelli con anticorpi di classe IgM (30).

Dal momento che nella AEA da autoanticorpi freddi di tipo IgM l'emolisi avviene prevalentemente a livello epatico, la splenectomia in genere non è efficace e pertanto non trova indicazione tra le opzioni terapeutiche in questa forma così come in quella indotta da farmaci (30).

Nella sindrome di Evans, la splenectomia è considerata una alternativa alla terapia immunosoppressiva ma con una percentuale di risposte a lungo termine inferiore a quelle registrate nella porpora trombocitopenica immune (31).

Molti pazienti dopo essere stati sottoposti a splenectomia richiedono ulteriore terapia steroidea, anche se spesso ad un dosaggio inferiore a quello richiesto prima della splenectomia (32).

Esperienza in età pediatrica

In letteratura sono descritte poche esperienze in età pediatrica in merito alla splenectomia effettuata per AEA. In una casistica francese su 265 bambini con AEA, la splenectomia è stata eseguita nel 13,9% dei casi. In questo gruppo erano però compresi 99 bambini con sindrome di Evans e non è precisato in quale proporzione abbiano contribuito al numero totale delle splenectomie (1). In un gruppo italiano di 15 bambini poi trattati con rituximab, 2 (13%) avevano ricevuto in precedenza una splenectomia (9). Pertanto risulta difficile valutare la reale efficacia di questo trattamento, anche se nei bambini la percentuale di successi sembra essere maggiore che negli adulti, con un minor numero di casi che necessita di ulteriore terapia cortisonica (33).

Durata della remissione

La durata delle remissioni sembra però essere molto variabile, e spesso solo temporanea. In talune casistiche si riportano **percentuali del 20% di remissioni di lunga durata o di guarigione completa**. Non esistono però studi clinici controllati, soprattutto per l'età pediatrica.

In un gruppo di 28 pazienti splenectomizzati per AEA con anticorpi caldi solo 2 (7%) erano in remissione completa dopo 5 anni, ma 6 (21%) erano in remissione parziale dopo 7 anni (25). In un altro gruppo di 52 pazienti il 30% era in remissione totale dopo 3 anni, il 21% era comunque in remissione parziale con una ridotta dose di steroidi dopo 6 anni (26).

In una casistica pediatrica, comprendente 42 pazienti con sindrome di Evans, 15 dei quali sottoposti a splenectomia, la durata media della remissione è stata di un solo mese (34).

Non esistono al momento indicatori che possano suggerire una migliore risposta o meno alla splenectomia: né la risposta alla terapia steroidea, né la durata della malattia né la definizione del sequestro splenico possono indirizzare sulla efficacia della risposta, come supposto da alcuni autori (19).

Una revisione della letteratura che include 5.902 pazienti splenectomizzati tra il 1952 ed il 1987 (quindi in epoca prevaccinale) indica che **il rischio di sepsi era quasi 5 volte superiore in età pediatrica che in età adulta** (4,4% contro 0,9%), con una mortalità quasi 3 volte superiore (2,2% contro 0,8%). Tale rischio era superiore nei bambini sotto i 5 anni (percentuale di infezione 10,4%), e soprattutto sotto i 2 anni (15,7%) (35).

Per questo motivo è stato suggerito di **evitare di sottoporre a splenectomia bambini di età inferiore ai 5 anni**, se non per casi veramente selezionati e critici.

Non esistono dati che indichino un eventuale aumento del rischio infettivo qualora la splenectomia venga eseguita dopo terapia immunosoppressiva. Nelle linee guida AIEOP per le piastrinopenie croniche si raccomanda, in caso di pregressa terapia con rituximab, di attendere la ricostituzione immunologica prima della splenectomia (36).

Negli ultimi anni, i progressi nelle tecniche operatorie microinvasive hanno portato a sviluppare e applicare **tecniche di chirurgia laparoscopica** anche nella fascia di età pediatrica, tanto da renderla tecnica di **prima scelta** laddove ve ne siano le condizioni (37); ottenendo così una serie di benefici: ridotto dolore postoperatorio e minore impiego di terapia

antalgica, più rapido recupero del regime alimentare, ridotta ospedalizzazione (1.4-3.6 giorni) e infine migliori risultati estetici. Di contro con la tecnica laparoscopica sono necessari tempi chirurgici più lunghi e un costo totale maggiore; tuttavia vari gruppi segnalano che i costi aumentati vengono controbilanciati dai ricoveri comunque più corti rispetto alle splenectomie a cielo aperto (38).

I rischi perioperatori sono molto bassi, con indicazione a prediligere la via laparoscopica anche in base alle dimensioni della milza che in questi pazienti non sono mai eccessive (39). La mortalità riportata in caso di splenectomia per via laparoscopica è dello 0.5-1%.

A causa dell'aumentato rischio di infezioni batteriche gravi, si raccomanda, anche nell'AEA, di **immunizzare il paziente verso i patogeni capsulati** (pneumococco, Hib, meningococco) **almeno due settimane prima dell'intervento** se tali vaccinazioni non fossero già state eseguite in precedenza (vedi anche cap.4) (40).

Altri farmaci immunosoppressori

Tra i trattamenti utilizzati per l'AEA si registrano altri farmaci immunosoppressori come il micofenolato, l'azatioprina e la ciclosporina che sono stati riportati in singoli casi refrattari ad altri trattamenti e rivestono un ruolo terapeutico limitato in età pediatrica tuttavia, come detto, tali farmaci possono essere utilizzati al fine di **permettere la riduzione del dosaggio di steroide ed eventualmente la sua definitiva sospensione** in pazienti in buone condizioni generali e con una buona remissione parziale al termine del trattamento di prima linea ma steroide dipendenti con necessità di una terapia con steroidi a dosaggi piuttosto alti (>0,1-0,2 mg/kg/die), trattamento spesso gravato da effetti collaterali non accettabili.

Questi immunosoppressori possono trovare inoltre indicazione in caso di risposta parziale dopo una terapia di seconda e terza linea, per controllare l'emolisi fino alla possibile sospensione del farmaco in caso di risposta completa o di stabilità.

Micofenolato

Il micofenolato (MMF) è un farmaco in genere ben tollerato il cui utilizzo è ipotizzabile in una terapia di II-III linea per l'AEA, sebbene i dati pubblicati in letteratura comprendano soltanto case report isolati e di non univoca interpretazione, soprattutto nelle forme gravi refrattarie ad altri trattamenti (41-43).

Il lungo tempo di latenza (2-8 settimane) prima dell'evidenza di una eventuale risposta clinica non lo rendono adatto a una terapia di emergenza. E' pertanto possibile prevederne l'utilizzo soprattutto **nelle forme di AEA in terapia cronica con steroidi dove il MMF può permettere una riduzione di dose dello steroide** stesso ed eventualmente condurre alla sua definitiva sospensione.

Le dosi consigliate sono 300-600 mg/mq due volte al giorno (max 2 gr/die).

Azatioprina

L'azatioprina è un farmaco immunosoppressore con attività sull'immunità umorale e cellulare ma con azione prevalente sui linfociti T (43). Grazie alla sua azione sui linfociti T può interferire con la sintesi anticorpale. E' improbabile che l'azatioprina riesca ad indurre remissione clinica se usata come unico trattamento ma potrebbe essere usata come un **risparmiatore di steroidi**. La dose terapeutica varia da 1 a 3 mg/kg/ die per os. Considerato

che l'obiettivo terapeutico dell'azatioprina è di ridurre la sintesi anticorpale è possibile che una risposta terapeutica non si evidenzia prima di almeno 3 mesi di terapia (44).

Ciclosporina

La ciclosporina è un farmaco immunosoppressore che agisce principalmente sui T linfociti ed è stato riportato come efficace in alcuni pazienti con AEA steroide-resistenti (45,46) o anche in associazione con gli steroidi (47,48). Tuttavia per i significativi effetti collaterali associati all'uso a lungo termine della ciclosporina (nefrotossicità, ipertensione), essa va utilizzata in casi selezionati alla dose di 2-10 mg/Kg die per os.

Ciclofosfamide

La ciclofosfamide (o Endoxan, EDX) è stata utilizzata ad alte dosi (10 mg/Kg/die ev per 10 giorni o 50 mg/kg/die ev per 4 giorni consecutivi) al fine di garantire immunoablazione senza completa mieloablazione in casi aneddotici di grave AEA refrattaria (49-51).

Su 9 pazienti con AEA cronica refrattaria, 6 hanno ottenuto la remissione completa e 3 una remissione parziale. Un effetto collaterale importante è stato la grave mielosoppressione, sebbene sia stata di breve durata e non associata a gravi infezioni (50). L'efficacia a lungo termine di questo approccio "aggressivo" rimane da provare, l'uso in età pediatrica deve essere improntato ad estrema cautela per i possibili effetti mutageni ma andrebbe testato in bambini selezionati con gravi forme a rischio per la vita (51).

Alemtuzumab

Alemtuzumab è un anticorpo monoclonale umanizzato specifico per l'antigene CD52 che si è dimostrato efficace nel trattamento della leucemia linfatica cronica B e che, per il suo preminente effetto immunosoppressivo, può essere utile nella terapia delle complicanze autoimmuni ad essa associate.

L'esperienza sull'uso di questo farmaco nella AEA è molto scarsa e circoscritta in massima parte all'adulto. In particolare, alemtuzumab ha indotto una risposta completa in 13/16 pazienti (dei quali un solo bambino) con AEA idiopatica refrattaria (52-54) ed in 11/12 pazienti con AEA secondaria a leucemia linfatica cronica (CLL) (55-59).

Riassumendo, dall'analisi della letteratura si evince che alemtuzumab:

- si è dimostrato efficace (ORR 93%, CR 81%) in piccole serie di pazienti adulti con grave AEA "calda" idiopatica, refrattaria alla immunosoppressione convenzionale;
- si è dimostrato molto efficace (ORR 91%, CR 91%) in piccole serie di adulti con AEA associata a CLL e refrattaria a steroidi, splenectomia e rituximab, tanto da suggerirne l'uso nel trattamento delle AEA con CLL in progressione di malattia anche prima del rituximab (57,58,60,61);
- ha indotto remissione completa in 3 casi pediatrici di AEA refrattaria secondaria ad epatite a cellule giganti, a trapianto di cellule staminali e di intestino (62-64);
- è in generale ben tollerato, tranne le "reazioni del primo giorno", ma sono frequenti le riattivazioni virali e le complicanze infettive (52);
- ha un tempo medio di risposta di 5-8 settimane.

Secondo le più recenti opinioni di esperti, **alemtuzumab viene incluso nei trattamenti di ultimo impiego delle AEA calde gravi dell'adulto refrattarie a tutti i trattamenti**

conosciuti (18), sebbene il limitato numero dei casi descritti ed i potenziali effetti collaterali non consentano specifiche raccomandazioni (19).

Conclusioni

I bambini con AEA che recidivano dopo aver completato il trattamento steroideo in remissione completa vanno ritrattati con terapia steroidea e avviati a una terapia di seconda linea in caso di resistenza al ritrattamento o di nuova recidiva.

Le **indicazioni** ad iniziare una **terapia di II linea** nella AEA sono, come già detto, **l'assenza di risposta alla terapia di prima linea** e la necessità, a completamento del protocollo di cura cortisonico, di un **dosaggio di prednisone superiore a 0.1-0.2 mg/Kg/die** per mantenere una risposta parziale clinicamente accettabile. La terapia di seconda linea mira ad ottenere una remissione duratura dell'anemia.

Le raccomandazioni scaturite dalla Consensus Conference riguardo il trattamento di seconda linea per l'AEA da anticorpi caldi hanno individuato il **rituximab quale terapia di scelta**.

Nei pazienti refrattari al Rituximab la Consensus di Esperti consiglia l'utilizzazione della Ciclofosfamide ed eventualmente, la splenectomia.

Può essere considerato, in casi particolari, refrattari, l'utilizzo dell'Alemtuzumab.

Il trapianto di Cellule Staminali Emopoietiche trova indicazione nei pazienti con malattia refrattaria ad almeno tre linee di trattamento inclusa la splenectomia.

Dopo il trattamento con i farmaci suddetti, in caso di risposta parziale o di ripresa dell'emolisi, è possibile l'utilizzazione di prednisone o di altri immunosoppressori che andranno proseguiti per mantenere la risposta e sospesi dopo il raggiungimento della remissione completa o di una buona stabilizzazione della emopatia. Tra questi, il **micofenolato** è il più indicato, ma possono essere impiegati anche azatioprina e ciclosporina.

Nei bambini steroide-dipendenti, cioè che necessitano di una terapia con prednisone > 0.1-0.2 mg/Kg/die per mantenere una risposta clinicamente accettabile, è possibile iniziare una **terapia di mantenimento con farmaci immunosoppressori risparmiatori di steroide** per cercare una riduzione-sospensione dello steroide e controllare l'emopatia.

Tra questi farmaci viene consigliato, in particolare, il micofenolato e, in alternativa, l'azatioprina e la ciclosporina.

La fig. 1 riporta una flow chart riepilogativa.

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- | | |
|--|----------------|
| ◆ Nella recidiva di malattia è appropriato il trattamento precedente se la recidiva avviene dopo lo stop therapy | 7,6 - C |
| ◆ Il rituximab è da considerarsi terapia di seconda linea nei bambini con AEA da autoanticorpi caldi grave refrattaria alla terapia di prima linea | 8,6 - B |
| ◆ Il rituximab è da preferirsi alla splenectomia come terapia di seconda linea nelle AEA da anticorpi caldi | 8,6 - B |

- ◆ La splenectomia è da considerarsi terapia di terza linea nei casi di AEA da anticorpi caldi refrattaria alla terapia di prima e seconda linea 7,2 - C
 - ◆ Nei bambini di età inferiore ai 5 anni la splenectomia andrebbe differita usando farmaci alternativi 7,9 - D
 - ◆ La ciclosporina può essere indicata in casi selezionati steroideo-resistenti 7,3 - C
 - ◆ La ciclofosfamide (ad alte dosi) è indicata, come terapia di III linea, in casi selezionati gravi 8,3 - B
 - ◆ Nei pazienti di età maggiore di 5 anni già trattati con rituximab e non responsivi a tale trattamento è indicato trattamento con ciclofosfamide prima della splenectomia* 7,3 - C
 - ◆ Nei casi che richiedano più di 0.1-0.2 mg/kg/die di prednisone per mantenere una emoglobina clinicamente accettabile (> 9 gr.) è indicato un trattamento con micofenolato, al fine di permettere la riduzione del dosaggio di cortisonico ed eventualmente la sua definitiva sospensione 7,3 - B
 - ◆ L'azatioprina può essere indicata come risparmiatore di steroidi in casi selezionati candidati a trattamento steroideo per almeno 3 mesi, dopo il micofenolato 7,6 - C
- Provvedimento di appropriatezza incerta**
- ◆ La splenectomia è da considerarsi terapia di seconda linea nei bambini con AEA da autoanticorpi caldi grave refrattaria alla terapia di prima linea 3,6 - D
 - ◆ Nei pazienti di età maggiore di 5 anni già trattati con rituximab e non responsivi a tale trattamento è indicato il ricorso alla splenectomia prima di EDX* 4,6 - D

*Confronto tra due differenti indicazioni per una terapia di terza linea dopo Rituximab nell'AEA

Item	N	Mean±SD	Median (min-max)	p-value
Splenectomia pre EDX	16	4.625±2.094	4 (1-9)	0.010
EDX pre splenectomia		7.294±1.404	8 (4-9)	

P-value from Wilcoxon signed rank test

6. Barcellini W, Zanella A. Rituximab therapy for autoimmune haematological diseases. *Eur J Intern Med.* 2011 Jun;22(3):220-9. (AP-V)
7. Quartier P, Brethon B, Philippet P, Landman-Parker J, Le Deist F, Fischer A. Treatment of childhood autoimmune haemolytic anaemia with rituximab. *Lancet.* 2001 Nov 3;358(9292):1511-3. (P-V)
8. Motto DG, Williams JA, Boxer LA. Rituximab for refractory childhood autoimmune hemolytic anemia. *Isr Med Assoc J.* 2002 Nov;4(11):1006-8. (Review)
9. Zecca M, Nobili B, Ramenghi U, Perrotta S, Amendola G, Rosito P, Jankovic M, Pierani P, De Stefano P, Bonora MR, Locatelli F. Rituximab for the treatment of refractory autoimmune hemolytic anemia in children. *Blood.* 2003 May 15;101(10):3857-61. (P-V)
10. Bader-Meunier B, Aladjidi N, Bellmann F, Monpoux F, Nelken B, Robert A, Armari-Alla C, Picard C, Ledeist F, Munzer M, Yacouben K, Bertrand Y, Pariente A, Chaussé A, Perel Y, Leverger G. Rituximab therapy for childhood Evans syndrome. *Haematologica.* 2007 Dec;92(12):1691-4. (P-V)
11. Rao A, Kelly M, Musselman M, Ramadas J, Wilson D, Grossman W, Shenoy S. Safety, efficacy, and immune reconstitution after rituximab therapy in pediatric patients with chronic or refractory hematologic autoimmune cytopenias. *Pediatr Blood Cancer.* 2008 Apr;50(4):822-5. (P-V)
12. Berentsen S, Ulvestad E, Langholm R, Beiske K, Hjorth-Hansen H, Ghanima W, Sørbo JH, Tjønnfjord GE. Primary chronic cold agglutinin disease: a population based clinical study of 86 patients. *Haematologica.* 2006 Apr;91(4):460-6. (A-V)
13. Schöllkopf C, Kjeldsen L, Bjerrum OW, Mourits-Andersen HT, Nielsen JL, Christensen BE, Jensen BA, Pedersen BB, Taaning EB, Klausen TW, Birgens H. Rituximab in chronic cold agglutinin disease: a prospective study of 20 patients. *Leuk Lymphoma.* 2006 Feb;47(2):253-60. (A-V)
14. Gea-Banacloche JC. Rituximab-associated infections. *Semin Hematol.* 2010 Apr;47(2):187-98. (Review).
15. Berentsen S, Ulvestad E, Gjertsen BT, Hjorth-Hansen H, Langholm R, Knutsen H, Ghanima W, Shammass FV, Tjønnfjord GE. Rituximab for primary chronic cold agglutinin disease: a prospective study of 37 courses of therapy in 27 patients. *Blood.* 2004 Apr 15;103(8):2925-8. (A-V)
16. Narat S, Gandla J, Hoffbrand AV, Hughes RG, Mehta AB. Rituximab in the treatment of refractory autoimmune cytopenias in adults. *Haematologica.* 2005 Sep;90(9):1273-4. (A-V)
17. Barcellini W, Zaja F, Zaninoni A, Imperiali FG, Battista ML, Di Bona E, Fattizzo B, Consonni D, Cortelezzi A, Fanin R, Zanella A. Low-dose rituximab in adult patients with idiopathic autoimmune hemolytic anemia: clinical efficacy and biologic studies. *Blood.* 2012 Apr 19;119(16):3691-7. (AP-V)
18. Lechner K, Jäger U. How I treat autoimmune hemolytic anemias in adults. *Blood.* 2010 Sep 16;116(11):1831-8. (Review).
19. Crowther M, Chan YL, Garbett IK, Lim W, Vickers MA, Crowther MA. Evidence-based focused review of the treatment of idiopathic warm immune hemolytic anemia in adults. *Blood.* 2011 Oct 13;118(15):4036-40. (Review).
20. Micheli F. Unmittelbare Effekte der Splenektomie bei einem Fall von erworbenen hämolytischen splenomegalischen Ikterus, Typhus Hayem-Widal. *Wien Klin Wschr* 1911 ; 24 : 1269-74.
21. Allgood JW, Chaplin J. Idiopathic acquired auto-immune hemolytic anemia. A review of forty-seven cases treated from 1955 through 1965. *Am J Med.* 1967;43:254-273. (A-V)
22. Zupanska B, Sylwestrowicz T, Pawelski S. The results of prolonged treatment of autoimmune haemolytic anaemia. *Haematologia.* 1981;14:425-433. (A-V)
23. Akpek G, McAneny D, Weintraub L. Comparative response to splenectomy in Coombs-positive auto-immune hemolytic anemia with or without associated disease. *Am J Hematol.* 1999;61(2):98-102. (A-V)
24. Balague C, Targarona EM, Cerdan G, et al. Long-term outcome after laparoscopic splenectomy related to hematologic diagnosis. *Surg Endoscop.* 2004;18:1283-1287. (A-V)
25. Chertkow G, Dacie JV. Results of splenectomy in auto-immune haemolytic anaemia. *Br J Haematol.* 1956;2:237-249. (A-V)

26. Coon WW. Splenectomy in the treatment of hemolytic anemia. *Arch Surg.* 1985;120:625-628. (A-V)
27. Musser G, Lazar G, Hocking W, Busuttill W. Splenectomy for hematologic disease. The UCLA experience with 306 patients. *Ann Surg.* 1984; 200:40-45. (A-V)
28. Grant IR, Parsons SW, Johnstone JMS, Wood JK. Elective splenectomy in haematological disorders. *Ann R Coll Surg Engl.* 1988;70:29-33. (A-V)
29. Atkinson JP, Schreiber AD, Frank MM: Effects of corticosteroids and splenectomy on the immune clearance and destruction of erythrocytes. *J Clin Invest* 1973; 52:1509-1517.
30. Dacie JV: Autoimmune hemolytic anaemia. *Arch Intern Med* 1975; 135:1293-1300.
31. Norton A, Roberts I. Management of Evans syndrome. *Br J Haematol.* 2006;132:125-37. (A-V)
32. Chaplin H, Avioli LV. Grand rounds: autoimmune hemolytic anemia. *Arch Intern Med.* 1977 Mar;137:346-51. (V)
33. Valent P, Lechner K. Diagnosis and treatment of autoimmune haemolytic anaemias in adults: a clinical review. *Wien Klin Wochenschr* 2008;120: 136–151. (P-V)
34. Mathew P, Chen G, Wang W. Evans syndrome: results of a national survey. *J. Pediatr Hematol Oncol.* 1997;19:433-7. (P-V)
35. Holdsworth RJ, Irving AD, Cuschieri A. Postsplenectomy sepsis and its mortality rate: actual versus perceived risks. *Br J Surg* 1991; 78:1031-1038. (Review)
36. Rescorla FJ, Engum SA, West KW, Tres Scherer LR 3rd, Rouse TM, Grosfeld JL. Laparoscopic splenectomy has become the gold standard in children. *Am Surg.* 2002;68:297-301. (Review)
37. Rescorla FJ. Laparoscopic splenectomy. *Semin Pediatr Surg.* 1998;7:207-12. (Review)
38. Targarona EM, Espert JJ, Bombuy E, Vidal O, Cerdán G, Artigas V, Trías M. Complications of laparoscopic splenectomy. *Arch Surg.* 2000 Oct;135(10):1137-40. (A-V)
39. American Academy of Pediatrics. Committee on Infectious Diseases. Policy statement: recommendations for the prevention of pneumococcal infections, including the use of pneumococcal conjugate vaccine (Prevnar™), pneumococcal polysaccharide vaccine, and antibiotic prophylaxis. *Pediatrics.* 2000; 106(2Pt1): 3626. (Raccomandazioni)
40. Guirat-Dhouib N, Mellouli F, Kouki R, Bejaoui M. Successful treatment of mycophenolate mofetil in a child with refractory Evans syndrome. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2010 Aug;32(6):e244. (P-V)
41. Jubinsky PT, Moulton T, Tewari P, Short MK. Severe Evans syndrome with multi-system involvement is a distinct immunodeficiency disorder. *Pediatr Blood Cancer.* 2009 May;52(5):659-61. (P-V)
42. Friedmann AM, King KE, Shirey RS, Resar LM, Casella JF. Fatal autoimmune hemolytic anemia in a child due to warm-reactive immunoglobulin M antibody. *J Pediatr Hematol Oncol.* 1998 Sep-Oct;20(5):502-5. (P-V)
43. Collins PW, Newland AC. Treatment modalities of autoimmune blood disorders. *Semin Hematol* 1992; 29:64-74. (Review)
44. Dündar S, Ozdemir O, Ozcebe O. Cyclosporin in steroid-resistant autoimmune haemolytic anaemia. *Acta Haematol* 1991; 86:200-202. (A-V)
45. Emilia G, Messori C, Longo G, Bertesi M. Long-term salvage treatment by cyclosporin in refractory autoimmune haematological disorders. *Br J Haematol.* 1996; 93: 341-4. (A-V)
46. Motta M, Cavazza A, Migliori C, Chirico G. Autoimmune haemolytic anaemia in a newborn infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2003; 88(4): F341-2. (P-V)
47. Uçar B, Akgün N, Aydoğdu SD, Kirel B, İdem S. Treatment of refractory Evans' syndrome with cyclosporine and prednisone. *Pediatr Int.* 1999; 41:104-7. (P-V)
48. Brodsky RA, Petri M, Smith BD, et al. Immunoablative high-dose cyclophosphamide without stem-cell rescue for refractory, severe autoimmune disease. *Ann Intern Med* 1998;129: 1031-1035. (A-V)
49. Moyo VM, Smith D, Brodsky I, et al. High-dose cyclophosphamide for refractory autoimmune hemolytic anemia. *Blood* 2002; 100: 704-706. (AP-V)
50. Panceri R, Frascini D, Tornotti G, et al. Successful use of high-dose cyclophosphamide in a child with severe autoimmune hemolytic anemia. *Haematologica* 1992; 77: 76-78. (P-V)

51. Willis F, Marsh JC, Bevan DH, Killick SB, Lucas G, Griffiths R, Ouwehand W, Hale G, Waldmann H, Gordon-Smith EC. The effect of treatment with Campath-1H in patients with autoimmune cytopenias. *Br J Haematol*. 2001 Sep;114(4):891-8. (A-V)
52. Cheung WW, Hwang GY, Tse E, Kwong YL. Alemtuzumab induced complete remission of autoimmune hemolytic anemia refractory to corticosteroids, splenectomy and rituximab. *Haematologica*. 2006 May;91(5 Suppl):ECR13. (A-V)
53. Gómez-Almaguer D, Solano-Genesta M, Tarín-Arzaga L, Herrera-Garza JL, Cantú-Rodríguez OG, Gutiérrez-Aguirre CH, Jaime-Pérez JC. Low-dose rituximab and alemtuzumab combination therapy for patients with steroid-refractory autoimmune cytopenias. *Blood*. 2010 Dec 2;116(23):4783-5. (A-V)
54. Rodon P, Breton P, Courouble G. Treatment of pure red cell aplasia and autoimmune haemolytic anaemia in chronic lymphocytic leukaemia with Campath-1H. *Eur J Haematol*. 2003 May;70(5):319-21. (A-V)
55. Lundin J, Karlsson C, Celsing F. Alemtuzumab therapy for severe autoimmune hemolysis in a patient with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Med Oncol*. 2006;23(1):137-9. (A-V)
56. Karlsson C, Hansson L, Celsing F, Lundin J. Treatment of severe refractory autoimmune hemolytic anemia in B-cell chronic lymphocytic leukemia with alemtuzumab (humanized CD52 monoclonal antibody). *Leukemia*. 2007 Mar;21(3):511-4. (A-V)
57. Laurenti L, Tarnani M, Efremov DG, Chiusolo P, De Padua L, Sica S, Leone G. Efficacy and safety of low-dose alemtuzumab as treatment of autoimmune hemolytic anemia in pretreated B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2007 Aug;21(8):1819-21. (A-V)
58. Ames PR, Aw D, Rainey MG. Campath in haemolytic anaemia and chronic lymphatic leukaemia: an unsuccessful case. *Leukemia*. 2007 Nov;21(11):2380-1. (A-V)
59. Barros MM, Blajchman MA, Bordin JO. Warm autoimmune hemolytic anemia: recent progress in understanding the immunobiology and the treatment. *Transfus Med Rev*. 2010 Jul;24(3):195-210. (Review).
60. Royer B, Vaida I, Etienne A, Garidi R, Damaj G, Marolleau JP. Treatment of severe autoimmune hemolytic anemia in B-cell chronic lymphocytic leukemia with alemtuzumab. *Leukemia*. 2007 Aug;21(8):1841-2. (A-V)
61. Botija G, Ybarra M, Ramos E, Molina M, Sarriá J, Martínez-Ojinaga E, Andrés AM, López-Santamaría M, Prieto G. Autoimmune cytopaenia after paediatric intestinal transplantation: a case series. *Transpl Int*. 2010 Oct;23(10):1033-7. (P-V)
62. Chao MM, Levine JE, Ferrara JL, Cooling L, Cooke KR, Hutchinson RJ, Yanik GA. Successful treatment of refractory immune hemolysis following unrelated cord blood transplant with Campath-1H. *Pediatr Blood Cancer*. 2008 Apr;50(4):917-9. (P-V)
63. Rovelli A, Corti P, Beretta C, Bovo G, Conter V, Mieli-Vergani G. Alemtuzumab for giant cell hepatitis with autoimmune hemolytic anemia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007 Nov;45(5):596-9. (P-V)

10. TERAPIA NELLA AEA DA ANTICORPI FREDDI

Introduzione

Il trattamento di queste forme, che generalmente sono secondarie, per lo più associate ad infezioni batteriche o virali, e sono autolimitanti, si basa sul **controllo della malattia di base**. Per le rare forme primitive può essere indicata una terapia farmacologica.

Terapia farmacologica

Le terapie convenzionali indicate nelle forme calde e cioè i corticosteroidi inducono una risposta clinica modesta in meno del 15% dei casi (1,2). C'è qualche segnalazione, in casi singoli, di beneficio della terapia steroidea ev ad alte dosi (3-5).

L'uso di alfa interferon o di altri immunosoppressori ha dato risultati ancora più deludenti (1-2, 6-7).

Il rituximab è efficace e ben tollerato: due studi prospettici, ma non controllati né randomizzati, nell'adulto dimostrano che il rituximab è l'unico trattamento in grado di indurre una risposta nel 45-60% dei casi, ma con risposta completa solo nel 5% (8,9); tale percentuale sale ancora con l'aggiunta di fludarabina al rituximab: risposta nel 76% dei pazienti, con risposta completa in 21% (10). Tuttavia si tratta di uno studio non controllato, non randomizzato, i cui risultati promettenti vanno quindi interpretati con cautela; inoltre gli effetti collaterali sono frequenti sia in termini di tossicità ematologica nel 41 % dei casi e di infezioni nel 59% dei casi.

Altre terapie (per i dettagli si rimanda alle sezioni specifiche)

E' raccomandato **mantenere il paziente al caldo**; se l'emolisi intravascolare è rilevante occorre mantenere un'idratazione adeguata e monitorare la diuresi.

L'emotrasfusione è indicata solo nei casi di anemia grave e sintomatica: in questi casi è opportuno **preriscaldare i GR durante la trasfusione** mediante un generatore di calore situato internamente al deflussore.

L'exsanguinotrasfusione (EEX) può essere una valida opzione terapeutica nelle fase acuta di AEA perché simultaneamente possono essere rimossi sia gli eritrociti sensibilizzati che gli autoanticorpi circolanti.

Può essere indicato il **plasma exchange**: le forme di AEA mediate da IgM rispondono meglio a questa procedura rispetto a quelle mediate da IgG probabilmente a causa delle differenti dimensioni molecolari e per la prevalente distribuzione delle IgM all'interno del torrente circolatorio. Anche durante questa procedura particolare attenzione deve essere riservata alla temperatura.

Non ci sono evidenze che la splenectomia abbia utilità.

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ La terapia farmacologica è indicata nelle forme primitive, trasfusione-dipendenti **8,2 - B**
- ◆ Il rituximab è la prima scelta terapeutica nella AEA primitiva da anticorpi freddi **8,0 - C**

Provvedimento di appropriatezza incerta

- ◆ I corticosteroidi non sono raccomandati **6,9 - D**

Bibliografia

1. Lechner K, Jäger U. How I treat autoimmune hemolytic anemias in adults. *Blood*. 2010;116(11):1831-1838 (Review)
2. Berentsen S, Tjønnfjord GE. Diagnosis and treatment of cold agglutinin mediated autoimmune hemolytic anemia. *Blood Reviews* 26 (2012) 107–115 (Review)
3. Nanan R, Scheurlen W, Gerlich M, Huppertz HI. Severe low-titer cold-hemagglutinin disease responsive to steroid pulse therapy. *Ann Hematol*. 1995 Aug;71(2):101-2. (P-V)
4. Lahav M, Rosenberg I, Wysenbeek AJ. Steroid-responsive idiopathic cold agglutinin disease: a case report. *Acta Haematol*. 1989;81(3):166-8. (V)
5. Meytes D, Adler M, Viraq I, Feigl D, Levene C. High-dose methylprednisolone in acute immune cold hemolysis. *N Engl J Med*. 1985 Jan 31;312(5):318. (V)
6. Hillen HF, Bakker SJ. Failure of interferon-alpha-2b therapy in chronic cold agglutinin disease. *Eur J Haematol* 1994;53(4):242–3. (V)
7. Berentsen S, Tjønnfjord GE, Shammas FV, Bergheim J, Hammerstrom J, Langholm R, et al. No response to cladribine in five patients with chronic cold agglutinin disease. *Eur J Haematol* 2000;65(1):88–90 (A-V)
8. Berentsen S, Ulvestad E, Gjertsen BT, Hjorth-Hansen H, Langholm R, Knutsen H, et al (2004) Rituximab for primary chronic cold agglutinin disease: a prospective study of 37 courses of therapy in 27 patients. *Blood* 103:2925–2928 (P-V)
9. Schollkopf C, Kjeldsen L, Bjerrum OW, Mourits-Andersen HT, Nielsen JL, Christensen BE, et al (2006) Rituximab in chronic cold agglutinin disease: a prospective study of 20 patients. *Leuk Lymphoma* 47: 253–260. (P-V)
10. Berentsen S, Randen U, Vagan AM, Hjorth-Hansen H, Vik A, Dalgaard J, et al. High response rate and durable remissions following fludarabine and rituximab combination therapy for chronic cold agglutinin disease. *Blood* 2010;116(17): 3180–4. (P-V)

11. TERAPIA DELLA EMOGLOBINURIA PAROSSISTICA A FRIGORE

Introduzione

L'emoglobinuria parossistica a frigore in genere si manifesta 1-2 settimane dopo un processo infettivo di natura prevalentemente virale a carico soprattutto delle alte vie respiratorie e il suo decorso clinico è spesso autolimitante (1-4) pertanto la terapia si basa essenzialmente sul **trattamento della malattia di base** causa dell'emolisi e sul controllo delle condizioni generali e dei sintomi del bambino che possono essere anche rilevanti (astenia marcata, ittero, emoglobinuria, dolore addominale). La necessità effettiva di una terapia medica specifica è difficile da valutare e ciò è dovuto essenzialmente alla natura transitoria del processo morboso e alla bassa incidenza della malattia (1) anche se, come detto, la sua reale incidenza è verosimilmente sottostimata (v. cap.2).

Va segnalato come la prognosi è sostanzialmente buona anche se sono stati riportati casi gravi, anche fatali, in alcuni pazienti (2).

Terapia

I corticosteroidi a dosaggio convenzionale rappresentano l'approccio terapeutico di scelta nelle forme sintomatiche per cercare di controllare meglio i sintomi, di accorciare la durata del processo emolitico (2) e di evitare possibili riacutizzazioni dell'emopatia (5,6).

Ci sono dati, non ancora definitivamente validati, che suggeriscono l'opportunità di una **riduzione del trattamento steroideo più rapida** rispetto a quanto indicato per le AEA da anticorpi caldi (1, 3, 7).

Altri presidi terapeutici necessari nelle AEA gravi del bambino quali emotrasfusioni, terapie immunosoppressive più incisive come il rituximab, plasmaferesi possono essere a volte indicate (si rimanda alle sezioni specifiche per ulteriori dettagli sui trattamenti) (2, 9, 10).

E' necessaria, nelle forme più gravi, una idratazione che favorisca la diuresi evitando la possibile tossicità renale dovuta all'emoglobinuria (8).

Bibliografia

1. Petz LD.. Cold antibody autoimmune hemolytic anemia. Blood Rev. 2008;22: 1-15 (Review)
2. Heddle NM. Acute paroxysmal cold hemoglobinuria. Transfus Med Rev1989;3:219-229 (Review)
3. Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R. Erythropoiesis: Paroxysmal cold hemoglobinuria: A clinico-pathological study of patients with a positive Donath Landstainer test. Hematol 1999; 4: 137-164 (AP-V)
4. Chambers LA, Rauck AM. Acute transient haemolytic anemia with positive Donath Landstainer test following parvovirus B19 infection. J Pediatr Hematol Oncol. 1996 May; 18(2): 178-81. (P-V)
5. Mantadakis E, Bezirgiannidou Z, Martinis G, Chatzimichael A. Recurrence of paroxysmal cold hemoglobinuria in a boy after physical cooling for fever. J Pediatr Hematol Oncol. 2011 Jan;33(1): 40-2 (P-V)
6. Ogose T, Wakata Y, Kaneko M, Shinahara K, Takechi T, Kotani H. A case of recurrent paroxysmal cold hemoglobinuria with the different temperature thresholds of Donath Landstainer antibodies. J Pediatr Hematol Oncol. 2007 Oct;29(10): 716-9 (P-V)

7. Martinez Nadal S, Alcorta Loyola I, Estella Aguado J, Rives Sola S, Toll Costa T. Autoimmune hemolytic anemia with complement positive direct antiglobulin test. *An Pediatr(Barc)*. 2003 Sep;59(3):294-6. (P-V)
8. Hermida Vergara L, Costa Mota MC, Da Gloria Sarmiento A, Lourenco Duarte CA, Barbot JM. Insuficiencia renal aguda secundaria a hemoglobinuria paroxistica al frio. *An Pediatr (Barc)* 2006; 64(3): 267-9 (P-V)
9. Koppel A, Lim S, Osby M et al. Rituximab as successful therapy in a patient with refractory paroxysmal cold hemoglobinuria. *Transfusion* 2007; 47: 1902-1904. (A-V)
10. Roy-Burman RA, Glader BE. Resolution of severe Donath Landsteiner autoimmune haemolytic anemia temporally associated with institution of plasmapheresis. *Crit care Med*. 2002; 30:931-4. (P-V)

12. TERAPIA NELLA AEA MISTA

Introduzione

La prognosi e il trattamento delle AEA miste non può prescindere da una precisa caratterizzazione laboratoristica che permetta di distinguere le vere AEA miste con importante espressività clinica, legate alla contemporanea attività delle IgG calde e delle IgM a frigore, rispetto a quelle in cui la diagnosi è prevalentemente laboratoristica e l'attività clinica delle IgM a frigore, legata all'ampiezza termica autoanticorpale, è assente in quanto non attive a temperature più elevate.

La malattia è caratterizzata da un'emolisi spesso grave e un decorso clinico con riasacerbazioni anche severe.

Terapia

La strategia terapeutica della AEA mista prevede l'utilizzazione dello **steroidi** quale terapia di scelta con risposte cliniche spesso seguite da riacutizzazione dell'emolisi ed evoluzione verso una forma cronica o complessa (1-2).

Se necessario vanno considerati altri trattamenti per il controllo delle condizioni cliniche del bambino (trasfusioni, altre terapie aggiuntive, eventualmente plasma exchange per i quali si rimanda alle sezioni specifiche).

Nelle forme resistenti allo steroidi trova indicazione il rituximab (3-5) oltre agli altri presidi terapeutici delle AEA da anticorpi caldi e freddi a seconda dell'espressività della emopatia.

Bibliografia

1. Sokol RJ, Hewitt S, Stamps BK, et al. Autoimmune hemolysis: an 18 year study of 865 cases referred to a regional transfusion centre. *Br Med J.* 1981; 282: 2023-2027 (AP-V)
2. Shulman IA, Branch DR, Nelson JM, Thompson JC, Saxena S, Petz LD. Autoimmune hemolytic anemia with both cold and warm autoantibodies. *JAMA.* 1985; 253: 1746-1748. (V)
3. Weide R, Heymanns J, Koppler H. The polyneuropathy associated with Waldenström's macroglobulinaemia can be treated effectively with chemotherapy and the anti-CD20 monoclonal antibody rituximab. *Br J Hematol.* 2000; 109: 838-841. (A-V)
4. Zecca M, De Stefano P, Nobili B, Locatelli F. Anti-CD20 monoclonal antibody for the treatment of severe, immune mediated, pure red cell aplasia and hemolytic anemia. *Blood.* 2001; 97: 3995-3996 (P-V)
5. Stasi R, Pagano A, Stipa E, Amadori S. Rituximab chimeric anti CD20 monoclonal antibody treatment for adults with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2001. 98: 952-957 (A-V)
6. Morselli M, Luppi M, Potenza L, Facchini L, Tonelli S, Dini D, Leonardi G, Donelli A, Narni F, Torelli G. Mixed warm and cold autoimmune hemolytic anemia: complete recovery after 2 courses of rituximab treatment. *Blood.* 2002. 99: 3478-3479. (A-V)

13. IL TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMPOIETICHE

Introduzione e razionale

Il 20% circa dei bambini tra i 2 e i 12 anni affetti da AEA sviluppa una malattia cronica, con una mortalità che può raggiungere anche il 10% dei casi (1,2). La maggior parte dei pazienti affetti da citopenia autoimmune risponde bene al trattamento immunosoppressivo di prima linea e molti pazienti possono anche non richiedere alcun intervento terapeutico. Solo una piccola parte di essi, necessita di alte dosi di immunosoppressione e di impegnative terapie di supporto (1, 2). Per questo piccolo sottogruppo di pazienti, il trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE) rappresenta una possibile alternativa terapeutica.

L'utilizzo del TCSE per indurre tolleranza attraverso la sostituzione del sistema immunitario (TCSE allogenico) o il ripristino di una risposta immune normale (TCSE autologo) in pazienti affetti da patologie autoimmuni nasce dall'esperienza sia su modelli animali geneticamente predisposti (lupus, diabete) e immunizzati contro antigeni estranei (encefalomielite, artrite acuta sperimentale) che dal trattamento concomitante in pazienti sottoposti a trapianto per patologie maligne o aplasia midollare con una pre-esistente patologia autoimmune.(3, 4) Diversamente da altre malattie autoimmuni (sclerosi multipla, LES, artrite idiopatica giovanile) per cui esiste una ampia letteratura a riguardo, l'esperienza trapiantologica nelle citopenie autoimmuni ed in particolare nella AEA è estremamente limitata.

TCSE autologo

Un approccio trapiantologico di tipo autologo è stato inizialmente il più intuitivo, con l'idea che l'intensa immunosoppressione operata dal regime di condizionamento al trapianto potesse "resettare" il sistema immunitario del paziente (5-7). Nel 1995 si è assistito al primo TCSE autologo in un paziente affetto da patologia autoimmune, la sclerosi sistemica con ipertensione polmonare (8).

Da allora diversi casi e studi clinici sono stati riportati in letteratura e più di 1500 pazienti hanno ricevuto un TCSE, soprattutto autologo, per il trattamento di una malattia autoimmune grave (9-17). Alle iniziali descrizioni hanno poi fatto seguito vere e proprie raccomandazioni riguardanti l'appropriatezza del TCSE nel trattamento di patologie autoimmuni refrattarie alle terapie convenzionali.

Le prime linee guida sono state pubblicate nel 1997 come risultato di una stretta collaborazione tra due gruppi di clinici, l'European League Against Rheumatism (EULAR) e l'European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) (18). A queste prime linee guida ne hanno fatto seguito delle altre, con un ultimo aggiornamento pubblicato da poco (19).

Una recente analisi retrospettiva di tipo osservazionale del gruppo europeo EBMT, condotta su circa 900 pazienti con patologie autoimmuni resistenti/refrattarie alle terapie standard e sottoposti a TCSE autologo ha confermato che il TCSE autologo ha la capacità di indurre remissione della malattia di base sostenuta nel tempo (più di 5 anni), evidenziando che l'elemento maggiormente determinante l'*outcome* di risposta sia il tipo di malattia autoimmune trattata più che la strategia trapiantologica adottata.(20).

Il TCSE autologo può essere condotto **sia mediante l'utilizzo di cellule staminali emopoietiche (CSE) midollari che periferiche**. Queste ultime rappresentano oggi la

sorgente di cellule staminali utilizzata nella gran parte dei pazienti (circa il 93%). Tali cellule necessitano di essere mobilizzate ed eventualmente sottoposte a *purging* prima di essere reinfuse nel paziente. Nella maggior parte dei casi, le CSE periferiche sono mobilizzate mediante l'utilizzo di G-CSF (5-10 mcg/kg/die) da solo o in combinazione con la ciclofosfamide alla dose di 1,5-4 g/m² (21-24). Ad oggi non esistono studi sistematici che analizzino l'efficacia dei differenti regimi di terapia mobilizzante. Estrema cautela va impiegata nel somministrare la chemioterapia di mobilizzazione in pazienti affetti da sindrome di Evans, in quanto refrattari alla trasfusione di piastrine e quindi a rischio di sanguinamenti fatali (25). La eventuale manipolazione delle cellule staminali periferiche è una scelta propria del centro trapianti. Il *purging* avviene generalmente (92% dei casi) attraverso la selezione positiva delle cellule CD34+ o, più raramente, attraverso la selezione negativa delle sottopopolazioni linfocitarie con l'utilizzo di anticorpi monoclonali quali anti-CD52, anti-CD3, anti-CD19, anti-CD20. Ad oggi non esistono evidenze scientifiche che supportino il beneficio della manipolazione in un contesto autologo (20,26). Nel paziente **deve essere reinfusa una dose minima di 2x10⁶/kg cellule CD34+**, indipendentemente dalla presenza o meno di qualsiasi manipolazione del trapianto. Il regime di condizionamento pre-TCSE autologo nelle malattie autoimmuni prevede l'utilizzo di ciclofosfamide in associazione a sieroterapia. Nei bambini il regime di condizionamento maggiormente utilizzato è stato la combinazione di ciclofosfamide (120 mg/kg), fludarabina (150 mg/kg) e siero antilinfocitario (ATG) (27, 28).

Dei 52 pazienti affetti da citopenia autoimmune (PTI, AEA, sindrome di Evans) sottoposti a TCSE in 50 diversi centri e presenti nel registro EBMT, 24 sono bambini e di questi 19 hanno ricevuto un TCSE allogenico e solo 7 un autologo. **La progression-free survival (PFS) nei 7 bambini sottoposti a TCSE autologo è del 35%, con una transplant-related mortality (TRM) di circa il 20%** (20).

In letteratura sono inoltre disponibili informazioni su altri 4 bambini sottoposti a TCSE autologo per il trattamento di una citopenia autoimmune refrattaria/resistente alle terapie di I e II linea (2 AEA, 1 PTI, 1 aplasia pura della serie eritroide). Di questi bambini, però, solo uno mantiene una remissione completa della malattia di base 20 mesi dopo l'autotrapianto. Recentemente Daikeler *et al* hanno pubblicato i risultati di una analisi retrospettiva sull'incidenza di seconda malattia autoimmune in circa 350 pazienti registrati nel registro delle EBMT dal 1995 al 2009 in quanto sottoposti a TCSE per una precedente malattia autoimmune. Circa il 10% dei pazienti che aveva ricevuto un TCSE autologo presentava a 5 anni dal trapianto una nuova malattia autoimmune (29). Il LES come prima diagnosi e la manipolazione del trapianto con una selezione delle cellule CD34+ insieme all'utilizzo dell'ATG, risultavano essere i maggiori fattori di rischio di una seconda malattia autoimmune in un'analisi multivariata (29).

TCSE allogenico

Come detto in precedenza, dei 52 pazienti con citopenia autoimmune (PTI, AEA, sindrome di Evans) sottoposti a TCSE e presenti nel registro EBMT, 24 sono bambini e di questi 19 hanno ricevuto un TCSE allogenico. **La PFS nei 19 bambini sottoposti a TCSE allogenico è quasi il doppio di quella dei bambini sottoposti a TCSE autologo (60% vs 35%), nonostante una TRM sovrapponibile (20).**

La capacità delle cellule staminali emopoietiche di un donatore sano di curare una malattia autoimmune, così come la capacità dei linfociti del donatore (DLI) di eliminare l'autoreattività del ricevente (30) rappresentano un vantaggio in termini di PFS del TCSE allogenico nei confronti dell'autologo. Un'altra causa del migliore *outcome* del TCSE allogenico verso

l'autologo è da ricercare nel fatto che alcuni geni che predispongono all'autoimmunità sono localizzati a livello degli alleli MHC. Uno studio vaccinale condotto da Brinkman in un contesto sia pediatrico che adulto ha suggerito che la sola immunosoppressione del contesto autologo potrebbe non essere sufficiente a generare la tolleranza necessaria a curare l'autoimmunità (31). Inoltre evidenze cliniche del trasferimento di una malattia autoimmune da un donatore ad un ricevente di CSE, sebbene potenzialmente causata da una riattivazione di cellule memoria del donatore, riconduce alla teoria che la malattia autoimmune possa essere causata non tanto e/o non solo dal fallimento dell'induzione della tolleranza quanto da una anomalia di base della cellula staminale stessa.

I risultati degli studi pre-clinici sull'effetto *graft-versus-autoimmune* (GvA), con ripristino della normalità di un sistema immune autoreattivo, attraverso il TCSE allogenico sono stati successivamente supportati da evidenze cliniche. Diversi infatti sono oggi i *reports* presenti in letteratura su casi di malattie autoimmuni risoltesi in seguito ad un TCSE allogenico effettuato per il trattamento di una concomitante malattia ematologica maligna o non maligna. Tuttavia, a causa della esiguità dei dati esistenti, della loro eterogeneità e dell'inclusione dei risultati dei trapianti dei bambini all'interno di più ampi *report* su popolazioni adulte, molte questioni circa l'essenzialità, l'appropriatezza, la sicurezza, dell'utilizzo del TCSE nel trattamento di una malattia autoimmune in un *setting* pediatrico rimangono tuttora aperte.

Indicazioni al TCSE allogenico

Il TCSE allogenico dovrebbe essere preso in considerazione in tutti i bambini affetti da AEA/ sindrome di Evans refrattaria a più linee di trattamento inclusa la splenectomia.

Fattori prognostici pre-TCSE allogenico

A differenza di altre patologie ematologiche maligne e non maligne, dove l'elevato numero di trapianti effettuati ha permesso di identificare parametri clinici che ne influenzano la probabilità di successo, (32) il numero limitato di pazienti trattati, l'eterogeneità dei regimi di condizionamento, delle sorgenti di CSE e dei donatori utilizzati, hanno precluso fino ad oggi ogni analisi rivolta all'identificazione di possibili fattori prognostici predittivi di successo/fallimento del TCSE in soggetti affetti da AEA.

TCSE allogenico da donatore familiare HLA-identico:

Per ciascun bambino affetto da AEA/sindrome di Evans grave e refrattaria almeno a tre diverse linee di trattamento si consiglia l'esecuzione della tipizzazione HLA del nucleo familiare. Circa il 25% dei fratelli, infatti, risulta essere HLA identico.

Impiego di donatori alternativi di CSE

In assenza di un donatore familiare HLA-identico si può prendere in considerazione anche la possibilità di avviare la ricerca di un donatore volontario non consanguineo. La tipizzazione molecolare ad alta risoluzione per gli antigeni HLA-A, B, C, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5, DQA1 e DQB1 è, in questo contesto, indispensabile ed è altrettanto necessario adottare criteri di compatibilità fra donatore e ricevente particolarmente rigorosi e stringenti. Si precisa infine che, viste le particolari problematiche relative al trapianto da donatore volontario non

consanguineo nelle malattie non maligne, questo approccio terapeutico dovrebbe essere riservato a quei Centri di Trapianto con consolidata esperienza in tal senso.

Si sconsiglia l'utilizzo di donatori familiari parzialmente compatibili (aploidentici), in quanto sono dimostrati un più alto rischio infettivo ed una più alta mortalità trapianto-correlata associati a questo tipo di trapianto.

Impiego di fonti alternative di cellule staminali emopoietiche:

Si sconsiglia l'utilizzo di cellule staminali emopoietiche da sangue periferico, in quanto è dimostrata l'associazione tra l'impiego di questa fonte di cellule staminali ed una maggiore incidenza di GVHD cronica (33). I dati disponibili sull'impiego di CSE da sangue placentare nella AEA sono ancora molto scarsi. In particolare, sono riportati in letteratura solo tre casi di sindrome di Evans sottoposti a TCSE placentari (34). Un numero così limitato di pazienti trattati rende impossibile un'analisi dei fattori di rischio predittivi, per cui, in caso di impiego di unità di sangue placentare, appare corretto e prudente adottare gli stessi principi in uso per altre patologie non maligne (talassemia major o anemia falciforme).

In particolare, si ritiene indicato:

- selezionare un'unità di sangue placentare con un carico cellulare totale superiore a $4 \times 10^7/\text{Kg}$ di peso corporeo del ricevente oppure un numero di cellule CD34+ superiore a $2,0 \times 10^5/\text{kg}$;
- omettere il methotrexate nella profilassi della GVHD;(35)
- includere il thiotepa nel regime mieloablativo.(35)

Regime di condizionamento pre-trapianto.

Non sono disponibili in letteratura studi mirati al confronto di efficacia e tossicità dei differenti regimi di condizionamento in pazienti affetti da AEA. Nell'ultimo aggiornamento delle linee guida delle EBMT è raccomandato :

- per il TCSE da donatore familiare HLA identico l'utilizzo di ciclofosfamide (120 mg/kg) in associazione a fludarabina (150 mg/kg) e ATG (o altra sieroterapia anti cellule T);
- per il TCSE da donatore non consanguineo i regimi di condizionamento utilizzati in altre patologie non maligne. In questo ultimo caso la scelta del regime di condizionamento è ad appannaggio dell'esperienza del singolo centro trapianti.

Si ritiene, quindi, di poter consigliare i seguenti regimi di condizionamento:(36)

- Thiotepa 10 mg/Kg + Fludarabina 35 mg/Kg/die per 4 giorni + Melphalan 140 mg/m² + ATG
oppure
- Thiotepa 10 mg/Kg + Treosulfano 14 mg/Kg/die per 3 giorni + Fludarabina 40 mg/Kg/die per 4 giorni + ATG.

Profilassi della GVHD

Trapianto da donatore familiare HLA-identico.

Si consiglia l'impiego di (39):

- Ciclosporina A: 2 mg/Kg/die e.v., in 2 somministrazioni giornaliere, dal giorno -3 fino, approssimativamente, al giorno +20 - +25 dal trapianto. Successivamente, il farmaco

viene somministrato per via orale alla dose di 4–6 mg/Kg/die. Dopo 6–8 mesi dal trapianto la terapia immunosoppressiva può essere gradualmente ridotta, fino alla sospensione verso l'anno dal trapianto. Si raccomanda un monitoraggio dei livelli plasmatici di ciclosporina-A, mantenendoli tra 100 e 250 ng/mL.

- Methotrexate short-term: 15 mg/m² e.v. in 30 minuti il giorno +1; 10 mg/m² e.v. in 30 minuti i giorni +3 e +6 dal trapianto.

Trapianto da donatore volontario non consanguineo.

Si consiglia l'impiego di:

- Ciclosporina-A: come descritto sopra.
- Methotrexate *short-term*: 15 mg/m² e.v. in 30 minuti il giorno +1; 10 mg/m² e.v. in 30 minuti i giorni +3, +6 e +11 dal trapianto.
- ATG: Fresenius 5 -10 mg/Kg/die e.v. oppure Genzyme 2 – 3 mg/Kg/die, in infusione di 6 – 8 ore, dal giorno -5 al giorno -3. Premedicazione con metilprednisolone ed antistaminici.

Trapianto di sangue cordonale da donatore familiare HLA-identico.

Si consiglia l'impiego di (35):

- Ciclosporina-A: come descritto sopra.

Trapianto di sangue cordonale da donatore volontario non consanguineo.

Si consiglia l'impiego di:

- Ciclosporina-A: come descritto sopra.
- Metilprednisolone: 1-2 mg/Kg/die per via endovenosa, con progressiva riduzione fino alla sospensione a circa 30 giorni dal trapianto.
- Si raccomanda di evitare l'impiego del methotrexate (35).

Prospettive future

Le cellule stromali mesenchimali nel trattamento delle patologie autoimmuni

Le cellule staminali mesenchimali (MSC) sono cellule staminali multipotenti con un potenziale di differenziazione adipogenico, osteogenico e condrogenico.(40) Derivano da vari tessuti, compreso il midollo osseo, la placenta, il cordone ombelicale, il tessuto adiposo e i denti. Sebbene rappresentino un gruppo eterogeneo di cellule progenitrici, per convenzione sono definite come cellule in grado di aderire alla plastica che esprimono specifici marcatori stromali di superficie (CD76, CD90 e CD105) e che invece non esprimono marcatori cellulari ematopoietici come CD11a, CD14, CD19, CD34, CD45 e MHC di classe II (40). Il razionale per l'utilizzo delle MSC nelle patologie autoimmuni è una loro potente ma locale attività immunosoppressiva ed anti-infiammatoria (41).

Le esperienze sull'impiego delle MSC in modelli preclinici di malattie autoimmuni sono stati incoraggianti fin dalla primissima dimostrazione che le MSC possono prevenire lo sviluppo di encefalomielite autoimmune, un modello sperimentale di sclerosi multipla. In questo modello, le MSC determinavano una sostanziale riduzione del numero degli infiltrati infiammatori e riducevano la demielinizzazione e la perdita assonica. Anche un modello di colite

autoimmune chimicamente indotta migliorava in maniera significativa in seguito alla somministrazione di MSC, come conseguenza di una inibizione della risposta TH1 e l'espansione delle cellule T regolatorie. In un modello di autoimmunità multi-organo dovuta ad un deficit di cellule T regolatorie, le MSC determinavano un marcato miglioramento nella istopatologia dell'ileo distale (41).

Agli studi pre-clinici hanno poi fatto seguito incoraggianti risultati clinici. Uno dei primi campi di applicazione clinica/terapeutica delle MSC è stato il trattamento della GvHD acuta refrattaria alla terapia steroidea (42). Più recentemente, MSC autologhe derivate dal midollo osseo sono state testate in studi di fase I per il trattamento della malattia di Crohn refrattaria (43-45).

Nonostante oggi esistano più di 160 trials sull'utilizzo clinico delle MSC registrati su www.clinicaltrials.gov e più di 900 reviews siano state pubblicate, solo 14 trials clinici di fase I-II sulle malattie autoimmuni sono state pubblicate e tutti su un numero di pazienti inferiore a 15. Ancora oggi gli unici due *trials* clinici randomizzati su di una ampia coorte di pazienti sono quello sulla malattia di Chron e la GvHD.

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ Si consiglia l'esecuzione della tipizzazione HLA del nucleo familiare di pazienti affetti da AEA refrattaria ad almeno a 3 diverse linee di trattamento **8,1 - B**
- ◆ Il TCSE dovrebbe essere preso in considerazione come "opzione terapeutica" per i pazienti affetti da AEA grave, trasfusione-dipendente o da sindrome di Evans refrattaria a più linee di trattamento immunosoppressivo, inclusa la splenectomia, come da linee guida **8,3 - C**

Provvedimento non appropriato

- ◆ Il TCSE dovrebbe essere preso in considerazione come "opzione terapeutica" per i pazienti affetti da AEA grave, trasfusione-dipendente o da sindrome di Evans refrattaria a più linee di trattamento come da linee guida **2,5 - D**

Bibliografia

1. Rose N, Mackay I. The Autoimmune Disease. 4th edn ed. San Diego, CA: Elsevier Academic Press, 2006.
2. Norton A, Roberts I. Management of Evans syndrome. Br J Haematol. 2006 Jan; 132: 125-37.
3. Davidson A, Diamond B. Autoimmune diseases. N Engl J Med. 2001 Aug 2; 345: 340-50.
4. Sykes M, Nikolic B. Treatment of severe autoimmune disease by stem-cell transplantation. Nature. 2005 Jun 2; 435: 620-7.
5. Brinkman DM, de Kleer IM, ten Cate R, van Rossum MA, Bekkering WP, Fasth A, et al. Autologous stem cell transplantation in children with severe progressive systemic or polyarticular juvenile idiopathic arthritis: long-term follow-up of a prospective clinical trial. Arthritis Rheum. 2007 Jul; 56: 2410-21.

6. Burt RK, Verda L, Oyama Y, Statkute L, Slavin S. Nonmyeloablative stem cell transplantation for autoimmune diseases. . Springer Semin Immunopathol. 2004; 26: 57-69.
7. Gratwohl A, Passweg J, Gerber I, Tyndall A. Stem cell transplantation for autoimmune diseases. Best Pract Res Clin Haematol. 2001; 14: 755-76.
8. Marmont AM, Tyndall A, Gratwohl A, Vischer T. Haemopoietic precursor-cell transplants for autoimmune diseases. Lancet. 1995; 345: 978.
9. Burt RK, Loh Y, Pearce W, Beohar N, Barr WG, Craig R, et al. Clinical applications of blood-derived and marrow-derived stem cells for nonmalignant diseases. JAMA. 2008 Feb 27; 299: 925-36.
10. Burt RK, Marmont A, Oyama Y, Slavin S, Arnold R, Hiepe F, et al. Randomized controlled trials of autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases: the evolution from myeloablative to lymphoablative transplant regimens. Arthritis Rheum. 2006 Dec; 54: 3750-60.
11. Gratwohl A, Passweg J, Bocelli-Tyndall C, Fassas A, van Laar JM, Farge D, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases. Bone Marrow Transplant. 2005 May; 35: 869-79.
12. Illei GG. Hematopoietic stem cell transplantation in autoimmune diseases: is the glass half full or half empty? Arthritis Rheum. 2006 Dec; 54: 3730-4.
13. Kapoor S, Wilson AG, Sharrack B, Lobo A, Akil M, Sun L, et al. Haemopoietic stem cell transplantation--an evolving treatment for severe autoimmune and inflammatory diseases in rheumatology, neurology and gastroenterology. Hematology. 2007 Jun; 12: 179-91.
14. Krauss AC, Kamani NR. Hematopoietic stem cell transplantation for pediatric autoimmune disease: where we stand and where we need to go. Bone Marrow Transplant. 2009 Aug; 44: 137-43.
15. Popat U, Krance R. Haematopoietic stem cell transplantation for autoimmune disorders: the American perspective. Br J Haematol. 2004 Sep; 126: 637-49.
16. Rabusin M, Andolina M, Maximova N. Haematopoietic SCT in autoimmune diseases in children: rationale and new perspectives. Bone Marrow Transplant. 2008 Jun; 41 Suppl 2: S96-9.
17. Sullivan KM, Muraro P, Tyndall A. Hematopoietic cell transplantation for autoimmune disease: updates from Europe and the United States. Biol Blood Marrow Transplant. 2010 Jan; 16: S48-56.
18. Tyndall A, Gratwohl A. Blood and marrow stem cell transplants in auto-immune disease: a consensus report written on behalf of the European League against Rheumatism (EULAR) and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Bone Marrow Transplant. 1997 Apr; 19: 643-5.
19. Snowden JA, Saccardi R, Allez M, Ardizzone S, Arnold R, Cervera R, et al. Haematopoietic SCT in severe autoimmune diseases: updated guidelines of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Bone Marrow Transplant. 2011 Jun; 47: 770-90.
20. Farge D, Labopin M, Tyndall A, Fassas A, Mancardi GL, Van Laar J, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases: an observational study on 12 years' experience from the European Group for Blood and Marrow Transplantation Working Party on Autoimmune Diseases. Haematologica. 2010 Feb; 95: 284-92.
21. Burt RK, Fassas A, Snowden J, van Laar JM, Kozak T, Wulffraat NM, et al. Collection of hematopoietic stem cells from patients with autoimmune diseases. Bone Marrow Transplant. 2001 Jul; 28: 1-12.
22. Openshaw H, Stuve O, Antel JP, Nash R, Lund BT, Weiner LP, et al. Multiple sclerosis flares associated with recombinant granulocyte colony-stimulating factor. Neurology. 2000 Jun 13; 54: 2147-50.
23. Statkute L, Verda L, Oyama Y, Traynor A, Villa M, Shook T, et al. Mobilization, harvesting and selection of peripheral blood stem cells in patients with autoimmune diseases undergoing

- autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2007 Mar; 39: 317-29.
24. Zhang W, Zhou DB, Zhao Y, Zhuang JL, Leng XM, Wang SJ, et al. Peripheral blood CD34+ cell mobilization in 42 patients with severe autoimmune disease. *Chin Med Sci J*. 2007 Jun; 22: 108-12.
 25. Martino R, Sureda A, Brunet S. Peripheral blood stem cell mobilization in refractory autoimmune Evans syndrome: a cautionary case report. *Bone Marrow Transplant*. 1997 Sep; 20: 521.
 26. Moore J, Brooks P, Milliken S, Biggs J, Ma D, Handel M, et al. A pilot randomized trial comparing CD34-selected versus unmanipulated hemopoietic stem cell transplantation for severe, refractory rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2002 Sep; 46: 2301-9.
 27. Burt RK, Cohen BA, Russell E, Spero K, Joshi A, Oyama Y, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for progressive multiple sclerosis: failure of a total body irradiation-based conditioning regimen to prevent disease progression in patients with high disability scores. *Blood*. 2003 Oct 1; 102: 2373-8.
 28. Burt RK, Patel D, Thomas J, Yeager A, Traynor A, Heipe F, et al. The rationale behind autologous autoimmune hematopoietic stem cell transplant conditioning regimens: concerns over the use of total-body irradiation in systemic sclerosis. *Bone Marrow Transplant*. 2004 Nov; 34: 745-51.
 29. Daikeler T, Labopin M, Di Gioia M, Abinun M, Alexander T, Miniati I, et al. Secondary autoimmune diseases occurring after HSCT for an autoimmune disease: a retrospective study of the EBMT Autoimmune Disease Working Party. *Blood*. 2011 Aug 11; 118: 1693-8.
 30. Marmont AM, Gualandi F, Van Lint MT, Bacigalupo A. Refractory Evans' syndrome treated with allogeneic SCT followed by DLI. Demonstration of a graft-versus-autoimmunity effect. *Bone Marrow Transplant*. 2003 Mar; 31: 399-402.
 31. Brinkman DM, Jol-van der Zijde CM, ten Dam MM, te Boekhorst PA, ten Cate R, Wulffraat NM, et al. Resetting the adaptive immune system after autologous stem cell transplantation: lessons from responses to vaccines. *J Clin Immunol*. 2007 Nov; 27: 647-58.
 32. Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, Angelucci E, Baronciani D, Giardini C, et al. Bone marrow transplantation in patients with thalassemia. *N Engl J Med*. 1990 Feb 15; 322: 417-21.
 33. Ghavamzadeh A, Iravani M, Ashouri A, Mousavi SA, Mahdavi N, Shamshiri A, et al. Peripheral blood versus bone marrow as a source of hematopoietic stem cells for allogeneic transplantation in children with class I and II beta thalassemia major. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008 Mar; 14: 301-8.
 34. Urban C, Lackner H, Sovinz P, Benesch M, Schwinger W, Dornbusch HJ, et al. Successful unrelated cord blood transplantation in a 7-year-old boy with Evans syndrome refractory to immunosuppression and double autologous stem cell transplantation. *Eur J Haematol*. 2006 Jun; 76: 526-30.
 35. Locatelli F, Rocha V, Reed W, Bernaudin F, Ertem M, Grafakos S, et al. Related umbilical cord blood transplantation in patients with thalassemia and sickle cell disease. *Blood*. 2003 Mar 15; 101: 2137-43.
 36. ithanet ElfTRN. Guideline. Haematopoietic stem cell transplantation in children with thalassemiamajor.[cited;Availablefrom:http://portal.ithanet.eu/files/folders/clinical_protocols/entry560.aspx
 37. Hartman AR, Williams SF, Dillon JJ. Survival, disease-free survival and adverse effects of conditioning for allogeneic bone marrow transplantation with busulfan/cyclophosphamide vs total body irradiation: a meta-analysis. *Bone Marrow Transplant*. 1998 Sep; 22: 439-43.
 38. Hassan M, Ljungman P, Ringden O, Hassan Z, Oberg G, Nilsson C, et al. The effect of busulphan on the pharmacokinetics of cyclophosphamide and its 4-hydroxy metabolite: time interval influence on therapeutic efficacy and therapy-related toxicity. *Bone Marrow Transplant*. 2000 May; 25: 915-24.

39. Locatelli F, Bruno B, Zecca M, Van-Lint MT, McCann S, Arcese W, et al. Cyclosporin A and short-term methotrexate versus cyclosporin A as graft versus host disease prophylaxis in patients with severe aplastic anemia given allogeneic bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling: results of a GITMO/EBMT randomized trial. *Blood*. 2000 Sep 1; 96: 1690-7.
40. Horwitz EM, Le Blanc K, Dominici M, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, et al. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2005; 7: 393-5.
41. Tyndall A, Uccelli A. Multipotent mesenchymal stromal cells for autoimmune diseases: teaching new dogs old tricks. *Bone Marrow Transplant*. 2009 Jun; 43: 821-8.
42. Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, Locatelli F, Roelofs H, Lewis I, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet*. 2008 May 10; 371: 1579-86.
43. Duijvestein M, Vos AC, Roelofs H, Wildenberg ME, Wendrich BB, Verspaget HW, et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cell treatment for refractory luminal Crohn's disease: results of a phase I study. *Gut*. 2010 Dec; 59: 1662-9.
44. Ciccocioppo R, Russo ML, Bernardo ME, Biagi F, Catenacci L, Avanzini MA, et al. Mesenchymal stromal cell infusions as rescue therapy for corticosteroid-refractory adult autoimmune enteropathy. *Mayo Clin Proc*. 2012 Sep; 87: 909-14.
45. Ciccocioppo R, Bernardo ME, Sgarella A, Maccario R, Avanzini MA, Ubezio C, et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in the treatment of fistulising Crohn's disease. *Gut*. 2011 Jun; 60: 788-98.

14. AEA ASSOCIATA A MALATTIE AUTOIMMUNI

Le AEA associate a malattie immunologiche rappresentano circa la metà dei casi in età pediatrica. In circa il 40% dei pazienti l'AEA rappresenta la prima manifestazione clinica della patologia sottostante che, solo in una minoranza dei casi (10%), è rappresentata da una vera e propria malattia autoimmune, prevalentemente lupus ed epatiti (1). L'associazione AEA e malattie autoimmuni sembra essere più frequente nelle femmine e una familiarità per tali patologie è descritta, inoltre, in circa il 10% dei bambini affetti da AEA (1).

Lupus

La diagnosi di AEA in pazienti affetti da lupus è stata spesso posta sulla base della presenza di anemia associata alla positività del DAT, anche in assenza di evidenti segni di emolisi. Tale dato probabilmente rende sovrastimata la prevalenza dell'AEA che in realtà si attesterebbe a circa il 5-10% dei pazienti con lupus (2). Un quadro grave di AEA è piuttosto raro ed è stato spesso associato al coinvolgimento di altri organi come il rene o il SNC (3). La presenza di anticorpi antifosfolipidi in pazienti con lupus si attesta intorno al 15-30% e molti studi hanno mostrato una correlazione tra tale presenza e AEA con DAT positivo, facendo ipotizzare un diretto coinvolgimento di questo tipo di anticorpi nella distruzione della membrana eritrocitaria (4,5). In uno studio retrospettivo, la positività degli anticorpi anti cardiolipina in pazienti con AEA secondaria a Lupus è risultata decisamente superiore (75%) ad altri pazienti con Lupus senza AEA (6). Molti di tali pazienti presentavano anche insufficienza renale e piastrinopenia. L'AEA nei pazienti con lupus sembra quindi essere caratteristica dei pazienti con sindrome da antifosfolipidi (8). Non è ancora chiaro se la presenza dell'AEA in pazienti affetti da Lupus abbia un impatto sulla prognosi dello stesso (9), in alcuni studi è stata tuttavia dimostrata una maggiore mortalità in relazione alla sindrome da anticorpi antifosfolipidi (10). A differenza degli adulti la sintomatologia di esordio ed il decorso del lupus nei bambini tendono ad essere più aggressivi (11). Nonostante le manifestazioni ematologiche (citopenia e coagulopatie) rappresentino i sintomi di esordio più frequenti nei bambini affetti da lupus e circa il 50% presentino un DAT positivo, solo il 3% presenta all'esordio una AEA grave (12).

Epatite a cellule giganti

Questa rarissima epatite associata alla presenza di AEA è caratterizzata dalla presenza di epatociti giganti multi-nucleati, da un esordio molto precoce, generalmente dopo il periodo neonatale, e da una rapida evoluzione verso l'insufficienza epatica (13-16). Dai pochi casi descritti in letteratura si evince una familiarità per malattie autoimmuni in poco meno della metà dei casi. Nella maggioranza dei pazienti, l'anemia e l'epatite sono insorte contemporaneamente mentre un terzo circa dei pazienti ha sviluppato l'AEA da 1 a 10 mesi prima. La ricerca di autoanticorpi è risultata negativa nella maggioranza dei casi (17). Il trattamento immunosoppressivo con steroide ed azatioprina ha portato alla remissione completa in circa la metà dei casi (18-19). Sono state tuttavia descritte, in concomitanza con la riduzione della terapia steroidea, frequenti recidive sia a livello epatico che ematologico che hanno richiesto trattamenti immunosoppressivi di seconda linea (20-22). Sono stati descritti 2 pazienti non responsivi che sono stati sottoposti a trapianto di fegato (23).

Raccomandazioni

Provvedimento appropriato

- ♦ La diagnosi di epatite a cellule giganti deve essere considerata in pazienti <2 anni con AEA ed epatite di incerta origine **8,7 - A**

Provvedimenti di appropriatezza incerta

- ♦ Prima della somministrazione di Immunoglobuline endovena effettuare screening autoanticorpale incluso anticorpi antifosfolipidi **6,5 - C**
- ♦ La persistenza di elevati livelli di transaminasi da causa sconosciuta in bambini con AEA rappresenta un'indicazione all'esecuzione di una biopsia epatica **6,6 - D**

Bibliografia

1. Aladjidi N, Leverger G, Leblanc T, Picat MQ, Michel G, Bertrand Y, Bader-Meunier B, Robert A, Nelken B, Gandemer V, Savel H, Stephan JL, Fouyssac F, Jeanpetit J, Thomas C, Rohrlach P, Baruchel A, Fischer A, Chêne G, Perel Y; Centre de Référence National des Cytopenies Auto-immunes de l'Enfant (CEREVANCE). New insights into childhood autoimmune haemolytic anemia: a French national observational study of 265 children. *Haematologica*. 2011 May; 96(5):655-63 (P-III)
2. Giannouli S, Voulgarelis M, Ziakas PD, Tzioufas AG. Anaemia in systemic lupus erythematosus: from pathophysiology to clinical assessment. *Ann Rheum Dis*. 2006 Feb;65(2):144-8 (A-Review)
3. Sultan SM, Begum S, Isenberg DA. Prevalence, patterns of disease and outcome in patients with systemic lupus erythematosus who develop severe haematological problems. *Rheumatology (Oxford)*. 2003 Feb;42(2):230-4. (A-IV)
4. Lang B, Straub RH, Weber S, Röther E, Fleck M, Peter HH. Elevated anticardiolipin antibodies in autoimmune haemolytic anaemia irrespective of underlying systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 1997;6(8):652-5 (A-IV)
5. Cheng HM. IgG antiphospholipid autoantibody in normal human sera is reactive against bromelain treated human erythrocytes. *J Rheumatol*. 1993 Feb;20(2):400-1 (A-V)
6. Sturfelt G, Nived O, Norberg R, Thorstensson R, Krook K. Anticardiolipin antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1987 Apr;30(4):382-8 (A-V)
7. Tektonidou MG, Ioannidis JP, Boki KA, Vlachoyiannopoulos PG, Moutsopoulos HM. Prognostic factors and clustering of serious clinical outcomes in antiphospholipid syndrome. *QJM*. 2000 Aug;93(8):523-30. (A-III)
8. Fong KY, Loizou S, Boey ML, Walport MJ. Anticardiolipin antibodies, haemolytic anaemia and thrombocytopenia in systemic lupus erythematosus. *Br J Rheumatol*. 1992 Jul;31(7):453-5. (A-IV)
9. Ward MM, Pyun E, Studenski S. Mortality risks associated with specific clinical manifestations of systemic lupus erythematosus. *Arch Intern Med*. 1996 Jun 24;156(12):1337-44 (A-V)
10. Drenkard C, Villa AR, Alarcón-Segovia D, Pérez-Vázquez ME. Influence of the antiphospholipid syndrome in the survival of patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 1994 Jun;21(6):1067-72. (A-IV)
11. Tucker LB, Menon S, Schaller JG, Isenberg DA. Adult- and childhood-onset systemic lupus erythematosus: a comparison of onset, clinical features, serology, and outcome. *Br J Rheumatol*. 1995 Sep;34(9):866-72. (AP-V)

12. Bader-Meunier B, Armengaud JB, Haddad E, Salomon R, Deschênes G, Koné-Paut I, Leblanc T, Loirat C, Niaudet P, Piette JC, Prieur AM, Quartier P, Bouissou F, Foulard M, Leverger G, Lemelle I, Pilet P, Rodière M, Sirvent N, Cochat P. Initial presentation of childhood-onset systemic lupus erythematosus: a French multicenter study. *J Pediatr*. 2005 May;146(5):648-53. (P-V)
13. Bernard O, Hadchouel M, Scotto J, Odièvre M, Alagille D. Severe giant cell hepatitis with autoimmune hemolytic anemia in early childhood. *Pediatr*. 1981 Nov;99(5):704-11 (P-V)
14. Perez-Atayde AR, Sirlin SM, Jonas M. Coombs-positive autoimmune hemolytic anemia and postinfantile giant cell hepatitis in children. *Pediatr Pathol*. 1994 Jan-Feb;14(1):69-77. (P-V)
15. Gorelik M, Debski R, Frangoul H. Autoimmune hemolytic anemia with giant cell hepatitis: case report and review of the literature. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2004 Dec;26(12):837-9 (P-Review)
16. Kashyap R, Sarangi JN, Choudhry VP. Autoimmune hemolytic anemia in an infant with giant cell hepatitis. *Am J Hematol*. 2006 Mar;81(3):199-201. (P-V)
17. Maggiore G, Sciveres M, Fabre M, Gori L, Pacifico L, Resti M, Choulot JJ, Jacquemin E, Bernard O. Giant cell hepatitis with autoimmune hemolytic anemia in early childhood: long-term outcome in 16 children. *J Pediatr*. 2011 Jul;159(1):127-132.e (P-V)
18. Brichard B, Sokal E, Gosseye S, Buts JP, Gadisseux JF, Cornu G. Coombs-positive giant cell hepatitis of infancy: effect of steroids and azathioprine therapy. *Eur J Pediatr*. 1991 Mar;150(5):314-7. (P-V)
19. Weinstein T, Valderrama E, Pettei M, Levine J. Early steroid therapy for the treatment of giant cell hepatitis with autoimmune hemolytic anemia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1993 Oct;17(3):313-6. (P-V)
20. Vajro P, Migliaro F, Ruggeri C, Di Cosmo N, Crispino G, Caropreso M, Vecchione R. Life saving cyclophosphamide treatment in a girl with giant cell hepatitis and autoimmune haemolytic anaemia: case report and up-to-date on therapeutical options. *Dig Liver Dis*. 2006 Nov;38(11):846-50 (P-V)
21. Miloh T, Manwani D, Morotti R, Sukru E, Shneider B, Kerkar N. Giant cell hepatitis and autoimmune hemolytic anemia successfully treated with rituximab. *Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007 May;44(5):634-6 (P-V)
22. Rovelli A, Corti P, Beretta C, Bovo G, Conter V, Mieli-Vergani G. Alemtuzumab for giant cell hepatitis with autoimmune hemolytic anemia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007 Nov;45(5):596-9. (P-V)
23. Melendez HV, Rela M, Baker AJ, Ball C, Portmann B, Mieli-Vergani G, Heaton ND. Liver transplant for giant cell hepatitis with autoimmune haemolytic anaemia. *Arch Dis Child*. 1997 Sep;77(3):249-51 (P-V)

15. SINDROME DI EVANS

Descrizione

La sindrome di Evans (SE) è un disordine ematologico caratterizzato dalla presenza contemporanea o in tempi successivi (sincrona o metacrona) di citopenia coinvolgente almeno due linee cellulari (1-4). E' una condizione rara, di cui non è nota la reale frequenza. Pui *et al* nel 1980 ne descrivevano 7 casi (circa 5%) nell'ambito di una casistica di 179 pazienti citopenici (164 porpora trombocitopenica immune, 15 AEA) (5). Nel recente studio osservazionale francese, su 265 pazienti arruolati per AEA, la SE rappresenta il 37% dei casi, senza differenze di sesso o etnia; lo stesso lavoro riscontra un esordio simultaneo di anemia e piastrinopenia nel 49% dei casi mentre compare prima la piastrinopenia nel 28% e la anemia nel 23%. Il tempo medio che intercorre tra la prima e la seconda citopenia è di 3 anni circa (range da 0,1-11 anni) (6).

Tali dati sono simili a quelli riscontrati nell'adulto, dove risulta però leggermente prevalente il sesso femminile (60% di 68 pazienti \geq 16 anni) (2).

E' possibile distinguere forme primitive e forme secondarie, associate cioè a condizioni patologiche che possono peraltro rendersi evidenti a distanza dalla diagnosi di SE: trattasi per lo più di patologie autoimmuni (LES, epatiti) e immunodeficienze.

Ben documentata in particolare la comparsa di SE in pazienti affetti da ALPS (Sindrome Linfoproliferativa Autoimmune) così come l'alta percentuale di pazienti affetti da SE ai quali viene successivamente formulata la diagnosi di ALPS (3,4,7,8), percentuale che in uno studio ha raggiunto il 47% (4). Non è segnalata tale correlazione nelle casistiche dell'adulto (nessun caso di ALPS su 68 pazienti) (2).

La presentazione clinica varia a seconda delle citopenie e dalla concomitanza o meno delle stesse (9).

Frequente il riscontro di linfadenopatia, epatomegalia e splenomegalia, segni che possono essere costanti o intermittenti, presenti cioè solo nelle fasi di riacutizzazione del quadro ematologico (5,3,10).

Tale obiettività è più frequente, ma non esclusiva, dei casi con sottostante ALPS.

Vanno escluse, in diagnosi differenziale, l'emoglobinuria parossistica notturna, la porpora trombotica trombocitopenica, la sindrome uremico-emolitica, la sindrome di Kasabach-Merrit, il deficit ereditario di ADAMTS-13, (11); in particolare la determinazione di Adamts-13 va ricercata nella Sindrome di Evans DAT negativa (12).

Le indagini di laboratorio sono sovrapponibili a quelle caratteristiche dell'AEA; nel sospetto di ALPS è opportuno effettuare accertamenti specifici (vedi anche cap 16 c) (13).

La malattia è caratterizzata da fasi di remissione e recidive; alcuni segnalano più frequenti recidive di PTI rispetto alla AEA (14) e/o più difficoltà alla risposta al trattamento per la piastrinopenia che risulta spesso più severa che nelle forme isolate (5).

La mortalità risultava notevolmente elevata nelle segnalazioni delle prime casistiche, pari a circa il 10-30% (14,15); rilevante comunque l'attuale 4% (6, 16) in relazione prevalentemente a eventi emorragici.

Terapia

Gli steroidi sono i farmaci di primo impiego nel trattamento della SE con le stesse modalità di utilizzazione della AEA isolata.

Le dosi più elevate (fino a 30 mg/Kg/die per 3 giorni con rapida riduzione nei giorni a seguire) sono riservate ai casi più gravi, specie a quelli con piastrinopenia marcata (1); è tuttavia segnalata, nella SE, un'**alta percentuale di recidive** alla riduzione o alla sospensione del trattamento steroideo (13,16).

Le Ig ev ad alte dosi (1 g/Kg/die per 1 o 2 gg) sono meno efficaci da sole, spesso sono usate in combinazione con lo steroide nelle forme con citopenie più gravi (13,16).

Le Ig vengono impiegate in prima linea come unica terapia soprattutto nei casi che si manifestano con sola piastrinopenia, in cui la diagnosi di SE non è ancora evidente.

Come terapia di **seconda linea** per la SE trova sostegno in letteratura l'impiego del **rituximab** al dosaggio standard 375 mg/mq/sett per 4 settimane (ma sono riportate fino a 8-9 settimane di trattamento continuativo) (17-22) anche se alcuni dati della letteratura segnalano un'efficacia anche a dosaggi inferiori (100 mg/mq/sett) (23,24). La percentuale di **risposte alla terapia con rituximab nella SE è di circa il 65 %** con possibilità di efficacia analoga in caso di recidiva (18,19); le casistiche di SE trattate con rituximab sono tuttavia con piccoli numeri (18,19). Nelle SE in corso di ALPS la risposta al rituximab sembra minore ed è invece maggiore il rischio di infezioni gravi per prolungata ipogammaglobulinemia (8,25).

Il **Micofenolato Mofetile (MMF) al dosaggio di 600 mg/mq x 2/die si è dimostrato efficace nell'80% dei casi trattati e ben tollerato** (26,27). E' stato impiegato soprattutto dopo stabilizzazione della citopenia con farmaci convenzionali o in associazione con essi, anche a lungo termine (1-2 anni) ed è efficace nel mantenimento e miglioramento della risposta, riducendo così gli effetti collaterali di una prolungata terapia steroidea (26-28). La percentuale di recidive alla sospensione è pari al 15-20% (27). **Nelle SE in corso di ALPS il MMF è preferibile al rituximab in quanto quest'ultimo è meno efficace e comporta un aumentato rischio di prolungata ipogammaglobulinemia** (8,25).

La ciclosporina è stata impiegata da sola o in associazione a steroidi o a micofenolato, in casi sporadici resistenti al trattamento di prima linea, con risultati variabili (28,29).

La splenectomia ha un'efficacia di risposta nella SE inferiore che nella piastrinopenia autoimmune cronica ed è gravata da un maggior rischio di sepsi soprattutto in pazienti affetti da ALPS anche se adeguatamente profilassati (13,16,30)

Esistono segnalazioni sporadiche circa l'impiego di altri farmaci quali ciclofosfamide, vincristina, danazolo, azatioprina, tacrolimus, 6-tioguanina, alemtuzumab, l'efficacia di questi trattamenti è variabile (13,16).

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ In caso di sindrome di Evans, si raccomanda di considerare la possibile diagnosi di ALPS **8,7 - B**
- ◆ Il trattamento di prima linea e di seconda linea della sindrome di Evans è sovrapponibile, per i farmaci e le modalità di approccio, a quello per le AEA **8,2 - B**
- ◆ Nella Sindrome di Evans con piastrinopenia sintomatica trova maggiori indicazioni, rispetto alla AEA, l'utilizzazione delle Immunoglobuline ad alte dosi **8,1 - C**

Bibliografia

1. Evans RS, Takahashi K, Duane RT, Payne R., Liu C "Primary thrombocytopenic purpura and acquired hemolytic anemia; evidence for a common etiology" Archives of Internal Medicine 1951, 87 : 48-65 (AP-V)
2. Michel M., Chanet V., Dechartres A., Morin AS., Piette JC., Cirasino L., Emilia G., Zaja F., Ruggeri M., Andres E., Bierling P., Godeau B., Rodeghiero F. "The spectrum of Evans syndrome in adults: new insight into the disease based on the analysis of 68 cases" Blood, 2009; 114 (15): 3167-72 (A-V)
3. Teachey DT., Manno CS., Axsom KM., Andrews T., Choi Jk., Greenbaum CH., et al "Unmasking Evans syndrome: T cell phenotype and apoptotic response reveal autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS)" Blood 2005, 105: 2443-2448 (P-V)
4. Seif AE., Manno CS., Sheen C., Grupp SA., Teachey DT. " Identifying autoimmune lymphoproliferative syndrome in children with Evans syndrome: a multi-institutional study". Blood 2010; 115 (11): 2142-5 (P-V)
5. Pui CH, Wilimas J., Wang W. "Evans syndrome in childhood" J Pediatr 1980 Nov; 97 (5): 754-8 (P-V)
6. Aladjidi n., Leverger G., Leblanc T., Quitterie Picat M., Michel G., Bertrand Y., Bader-Meunier B., Robert A., et al "New insights into childhood autoimmune haemolytic anemia : a French national observational study of 265 children" Haematologica 2011, 96(5) : 655-663 (P-III)
7. Oliveira JB et al "Revised diagnostic criteria and classification for the autoimmune lymphoproliferative syndrome ALPS) : report from the 2009 NIH International Workshop" Blood 2010, 116 (14) : 35-40 (Opinioni Esperti)
8. Teachey DT et al. " Advances in the management and understaining of autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS)" Br. J. Haematol, 2010 jan 148 (2): 205-21 (Review)
9. Ware RE. In Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood 2009 7th edition
10. Savasan S., Warrier I, Ravindranath Y. "The spectrum of Evans' syndrome". Arch. Dis. Child 1997, 77 (3): 245-8 (Review)
11. Schneppenheim r., Budde U., Hassenpflug W., Obser T. " Severe ADAMTS-13 deficiency in childhood." 2004 Seminars in Hematology 41, 83-89 (P-V)
12. C. Loirat MD, A. Veyradier, JP Girma, AS Ribba, D. Meyer. Thrombotic Thrombocytopenic Purpura associated with Willebrand Factor-Cleaving Protease (ADAMTS-13) deficiency in children. Seminars in Thrombosis and Hemostasis. Vol 32, N°2, 90-97, 2006. (Review)
13. Norton, Roberts I. "Management of Evans Syndrome" British Journal of Haematology 2005, 132: 125-137 (Review)
14. Wang WC "Evans syndrome in childhood: pathophysiology, clinical course and treatment". Am. J. Pediatr. Hematol Oncol. 1988; 10 (4): 330-8 (Review)
15. Zuelzer WW., Mastrangelo R., Stulberg CS., Poulik MD., Page RH., Thompson RI. "Autoimmune hemolytic anemia. natural history and viral-immunologic interactions in childhood" Am. J Med 1970; 49: 80-93 (P-V)
16. Blouin P., Auvrignon A., Pagnier A., Thuret I., Antoni G., Bader-Meunier B., Le Deist F., Chastagner P., Aladjidi N., Pellier I., Bertrand Y., Behar C., Landmann-Parker J., Leverger G., Perel Y. " Evans' syndrome : a retrospective study from the SHIP (French society of pediatric hematology and immunology)" Archives de pediatrie 12, 2005 : 1600-1607 (P-V)
17. Bader-Meunier B, et al : "Rituximab therapy for childhood Evans syndrome" Haematologica 2007, 92(12) : 1691-1694 (P-V)
18. Aarati Rao, Michael Kelly, et al "Safety, efficacy and immune reconstitution after rituximab therapy in pediatric patients with chronic refractory hematologic autoimmune cytopenias" Pediatric Blood and Cancer 2008; 50 : 822-825 (P-V)
19. DG Gokcebay et al "Evaluation of children with chronic immune thrombocytopenic purpura and Evans syndrome treated with rituximab" Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis Jul 19, 2012, pg 1-5 (P-V)

20. Yi Liang et al "Rituximab for children with immune thrombocytopenia : a systematic review" PlosOne May 2012, 5 : 1-10 (Review)
21. Parodi E et al " Rituximab (anti CD 20 monoclonal antibody) in children with chronic refractory symptomatic immune thrombocytopenic purpura : efficacy and safety of treatment" International Journal of Hematology 2006 Jul; 84(1) : 48-53 (P-V)
22. Xu S et al "Effect of rituximab in chronic refractory immune thrombocytopenic purpura in children" Pediatric Blood and Cancer 2011, 16 : 129-131 (P-V)
23. Yang J et al "Low dose of rituximab for children with chronic immune thrombocytopenia and a review of the literatures" Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology and Pediatrics" 2011, 7 : 474-475 (Review)
24. W. Barcellini, A. Zanella " Rituximab therapy for autoimmune haematological diseases" European Journal of Internal medicine 2011, 22 : 220-229 (AP-V)
25. V. Price "Autoimmune lymphoproliferative disorder and other secondary immune thrombocytopenias in childhood" Pediatric Blood and Cancer 2013; 60: S12-S14 (online on 25 October 2012) (P-V)
26. Kobt R et al "Efficacy of mycophenolate mofetil in adult refractory auto-immune cytopenias a single center preliminary study" European Journal of Haematology 2005, Jul 75(1) : 60-64 (A-V)
27. Koneti Rao V. et al "Use of mycophenolate mofetil for chronic, refractory immune cytopenias in children with autoimmune lymphoproliferative syndrome" Br J Hematol 2005 March, 129 : 534-538 (P-V)
28. P. Faruggia et al "Effectiveness of cyclosporine and mycophenolate mofetil in a child with refractory Evans Syndrome", Ped Rep 2011, 3: e15 (pg 49-50) (P-V)
29. Janic D et al " Glucocorticoid resistant Evans' syndrome successfully controlled with low dose cyclosporine" Int J Pharmacol Ther Oct 2011, 49 (10) : 622-5. (P-V)
30. Breakey Vicky R, Blanchette Victor S.: "Childhood immune thrombocytopenia : a changing therapeutic landscape" Sem Thromb Hem, n° 7-2011, vol 37 : 745-755 (P-V)

16. AEA NELLE IMMUNODEFICIENZE PRIMITIVE

Le immunodeficienze primitive (IP) rappresentano un gruppo eterogeneo di condizioni la cui definizione, fenotipica e genetica, è in continua evoluzione. Recentemente sono state descritte numerose forme di IP nelle quali i fenomeni autoimmuni secondari a disregolazione hanno un ruolo rilevante nell'insieme delle manifestazioni cliniche (1).

16a. AEA NELLA IMMUNODEFICIENZA COMBINATA GRAVE E NELLA SINDROME DI WISKOTT ALDRICH

Descrizione

Tra le IP che si associano a fenomeni autoimmunitari, rientrano anche le immunodeficienze combinate gravi (SCID) "atipiche", dovute a mutazioni ipomorfiche di geni SCID le cui mutazioni "null" si associano a fenotipo SCID classico (2,3,4). Le citopenie immuni rappresentano una manifestazione frequente nell'ambito delle immunodeficienze con autoimmunità (5). Tra le citopenie, l'AEA é particolarmente rilevante nella sindrome di Wiskott-Aldrich e sue varianti alleliche, nel deficit di purin-nucleoside fosforilasi (PNP) caratterizzato da linfopenia, infezioni ricorrenti e deficit neurologico progressivo, nelle forme "delayed" e "late onset" del deficit di adenosin deaminasi, nella sindrome con iper IgM (1,6-10). E' inoltre opportuno considerare la diagnosi di SCID atipica in pazienti con AEA, soprattutto se è presente linfopenia, anche oltre i primi anni di vita (4).

Va ricordato come l'AEA può rappresentare il sintomo di esordio in alcune immunodeficienze primitive (IP) (11,12) come pure l'IP può manifestarsi nel follow up di un'AEA (l'8,6% dei pazienti con AEA nello studio multicentrico francese relativo a 265 pazienti ha manifestato una IP) (13).

Terapia

Per quanto concerne il trattamento, tutte queste condizioni sono candidate a **trapianto di cellule staminali ematopoietiche**.

Nel caso della SCID da deficit di ADA il trattamento di elezione in caso di mancanza di donatore HLA familiare identico, risiede nell'impiego della **terapia sostitutiva con ADA coniugato al polietilen-glicole (PEG-ADA)** (14). Nel corso della ricostituzione immunologica successiva alla terapia con PEG-ADA possono comparire fenomeni di autoimmunità, particolarmente la AEA. In tale condizione sono stati impiegati, oltre a **steroidi** e **IG e.v.**, anche il **rituximab** (5).

Per la sindrome di Wiskott-Aldrich esistono delle raccomandazioni specifiche relative al trattamento dell'autoimmunità, e conseguentemente anche dell'AEA, che prevedono l'impiego degli **steroidi, risultati efficaci nel 70%** dei casi (15). L'utilizzo di rituximab potrebbe essere una terapia accettabile in pazienti in trattamento sostitutivo con IG e.v. (16).

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ Nei pazienti con AEA che presentano linfopenia si raccomanda di considerare la possibile diagnosi di SCID atipica **8,4 - B**
- ◆ L'approccio terapeutico per le AEA in corso Wiskott Aldricht e delle altre Immunodeficienze Primitive e' simile a quello delle AEA non associate a IP **8,2 - B**

16b. IMMUNODEFICIENZA COMUNE VARIABILE (CVID) E AEA

Descrizione

La CVID comprende un gruppo eterogeneo di condizioni caratterizzato da ipogammaglobulinemia interessante almeno due isotipi con numero normale o basso di linfociti B (1). Rappresenta a tutt'oggi una diagnosi di esclusione in quanto solo il 10% dei casi è associato a mutazioni di geni differenti (ICOS, TACI, BAFFR, CD19) (1,17). Il mancato riscontro di un corrispettivo genetico nella maggior parte di casi di CVID si riflette sulla variabilità clinica. E' possibile infatti che la CVID comprenda in realtà condizioni cliniche diverse. Al momento si riconoscono quattro fenotipi clinici, uno dei quali è rappresentato dall'autoimmunità (18). Tali fenotipi possono inoltre presentare sovrapposizioni. In termini di prevalenza, la manifestazione autoimmune più frequente nella CVID è rappresentata dalle citopenie che interessano l'11-12% dei pazienti (17). **L'AEA ha una prevalenza globale del 4% e può manifestarsi più volte nello stesso paziente.**

Terapia

Il trattamento di prima linea dell'AEA nella CVID è rappresentato dagli **steroidi** che possono essere impiegati con le modalità utilizzate per pazienti con AEA immunocompetenti, con l'accortezza di scegliere la dose minima efficace e il periodo più breve possibile (19). L'utilizzo di steroidi a dosi moderate viene giudicato sicuro nei pazienti con CVID, sebbene siano stati riportati casi di infezioni da CMV dopo terapia a lungo termine con steroidi ad alte dosi (17). Il ricorso alla splenectomia nei pazienti affetti da CVID è tuttora controverso (17). L'efficacia del rituximab è stata valutata in un recente studio multicentrico retrospettivo su 33 pazienti (bambini e adulti) affetti da CVID e citopenia (AEA o ITP); la risposta iniziale è stata pari a 85% (74% risposta completa), 10 pazienti sono ricaduti, 8 pazienti (24%), 4 dei quali non in trattamento sostitutivo con immunoglobuline, hanno presentato sepsi gravi (20). Poiché la terapia sostitutiva con Ig ev, trattamento d'elezione nei pazienti con CVID, sembrerebbe avere un effetto protettivo sull'insorgenza della AEA, un incremento della posologia ai consueti dosaggi immunomodulanti (0.8-2 g/kg/die) potrebbe essere utile nel trattamento dell'AEA (21); per i pazienti già in terapia sostitutiva con Ig sottocute, la somministrazione andrebbe fatta per via e.v. dal momento che la via s.c. non è compatibile con i volumi infusionali connessi con la terapia immunomodulante, né le Ig sottocute hanno, a tutt'oggi, l'indicazione di immunomodulazione.

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ Si consiglia, in caso di utilizzazione del rituximab nella AEA in pazienti affetti da CVID un trattamento sostitutivo con immunoglobuline e una adeguata sorveglianza degli eventi infettivi **8,6 - A**

16c. AEA E SINDROME LINFOPROLIFERATIVA AUTOIMMUNE (ALPS)

Descrizione

L'ALPS, nota anche come sindrome di Canale Smith, è una condizione genetica caratterizzata dall'esordio precoce di processi linfoproliferativi benigni, manifestazioni autoimmuni e aumentata suscettibilità allo sviluppo di linfomi (22,23). Essa è dovuta a difetto di apoptosi Fas indotta, meccanismo complesso in grado di prevenire l'espansione di cellule potenzialmente autoreattive (24). Clinicamente, il quadro d'esordio è generalmente caratterizzato da linfadenomegalia e splenomegalia che possono raggiungere dimensioni cospicue. L'iperplasia linfoide è cronica sebbene sia possibile osservare delle riduzioni spontanee in corso di processi infettivi (24). I processi autoimmuni interessano il 50-70% dei pazienti, a seconda delle casistiche (24,25). L'AEA rappresenta la citopenia più frequente nell'ambito dell'ALPS riguardando una percentuale di pazienti compresa tra il 29 e il 38% (24). Per quanto concerne i marcatori biologici di malattia, un aspetto distintivo è dato dalla presenza in circolo di **linfociti T doppi negativi (TCRalfa/beta+CD4-CD8-)** in percentuale superiore a 1,5% dei linfociti totali (o >2,5% delle cellule CD3+) in pazienti non linfopenici, con elevati livelli plasmatici di IL10 e di FAS Ligando (26,27).

I criteri diagnostici dell'ALPS sono stati recentemente rivisti e prevedono obbligatoriamente la presenza dei due criteri maggiori (linfadenomegalia e/o splenomegalia perdurante da più di 6 mesi; presenza di cellule doppie negative circolanti) ed un criterio accessorio, primario (difetto apoptosi linfocitaria; mutazione di FAS, FAS Ligando, CASP10) o secondario (elevati livelli plasmatici di FAS Ligando o di IL 10 o di vitamina B12 o di IL 18; - valutazione immunoistologica "standardizzata" del tessuto linfoide; - citopenie immuni e aumento delle immunoglobuline; - storia familiare di linfoproliferazione non neoplastica con o senza autoimmunità) (27).

Terapia

Per quanto riguarda il trattamento dell'AEA in pazienti ALPS, dai dati della letteratura emerge che i farmaci di prima linea sono rappresentati dagli **steroidi**, utilizzati a dosaggi convenzionali o anche a dosaggi elevati (metil-prednisolone 5-10 mg/Kg e.v.) (28,29). L'utilizzo del rituximab, limitato a poche serie di pazienti, non si è dimostrato efficace come nel trattamento dell'AEA non associata ad ALPS ed è invece maggiore il rischio di infezioni gravi per prolungata ipogammaglobulinemia (8,24,25,28,29). Sembra preferibile quindi l'impiego del **micofenolato mofetile (MMF) al dosaggio di 600 mg/mq x 2/die**, anche se le diverse casistiche riportano risultati variabili (28,29). Il **sirolimus** (rapamicina) è stato utilizzato con successo nel trattamento delle citopenie refrattarie ad altri trattamenti immunosoppressivi in pazienti con ALPS. Tale farmaco si è dimostrato inoltre efficace nel ridurre la linfomegalia e splenomegalia nei soggetti trattati (30). La splenectomia in pazienti ALPS è gravata da un'alta probabilità di recidiva delle citopenie oltre che da un rischio elevato di sepsi anche in pazienti in profilassi antibiotica (28,29,); tale trattamento andrebbe pertanto considerato solo in casi estremamente selezionati.

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ Il rituximab non si è rivelato così efficace nel trattamento dell'AEA associata ad ALPS. Il suo impiego andrebbe riservato a casi selezionati **8,1 - B**
- ◆ Tra i farmaci di seconda linea il sirolimus rappresenta una valida alternativa in caso di fallimento dello steroide (AEA in ALPS) **7,1 - C**
- ◆ La splenectomia andrebbe effettuata in casi estremamente selezionati indipendentemente dall'età (AEA in ALPS) **8,4 - B**

Bibliografia

1. Notarangelo LD, Fisher A, Geha RS et al. Primary Immunodeficiencies: 2009 update: The International Union of Immunological Societies (IUIS) Primary Immunodeficiency (PID) Expert Committee. J Allergy Clin Immunol. 2009;124:1161-1178; (Review)
2. Villa A, Notarangelo L, Roifman CM. Omenn syndrome. Inflammation in leaky combined severe immunodeficiency. L Allergy Clin Immunol 2008;122:1082-6 (Review)
3. Pasic S, Djuricic S, et al. Recombinase-activating gene 1 immunodeficiency: different immunological phenotype In three siblings. Acta Paediatrica 2009; 98:1057-65 (P-V)
4. Felgentreff K, Perez-Becker R, Speckmann C et al. Clinical and immunological manifestations of patients with atypical severe combined immunodeficiency. Clin Immunol 2011;141:73-82 (P-V)
5. Notarangelo LD. Primary immunodeficiencies (PIDs) presenting with cytopenias. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2009:139-43 (Review)
6. Bosticardo M, Marangoni F, Aiuti A et al. Recent advances in understanding the pathophysiology of Wiskott-Aldrich syndrome. Blood 2009;113:6288-6295 (Review)
7. Albert MH, Bittner TC, Nonoyama S, Notarangelo LD et al. X-linked thrombocytopenia (XLT) due to WAS mutations: clinical characteristics, long-term outcome and treatment options. Blood 2010;115(16):3231-8 (AP-V)
8. Rich KC, Arnold WJ, Palella T, Fox IH. Cellular immune deficiency with autoimmune hemolytic anemia in purine nucleoside phosphorylase deficiency. Am J Med 1979;67:172-6 (P-V)
9. Arredondo-Vega FX, Santisteban I et al. Adenosin Deaminase Deficiency: Genotype-Phenotype Correlation Based on Expressed Activity of 29 Mutant Alleles. Am J Hum Genet 1998;63:1049-1059 (AP-III)
10. Jesus AA, Duarte AJ, Oliveira JB. Autoimmunity in hyper-IgM syndrome. J Clin Immunol 2008;28:62-66 (Review)
11. Quinti I, Soresina A et al. Long-term follow up and outcome of a large cohort of patients with common variable immunodeficiency. J Clin Immunol 2007;27:308-16 (AP-V)
12. Teachey DT, Manno CS, Axsom KT et al. Unmasking Evans syndrome: T-cell phenotype and apoptotic response reveal autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS). Blood 2005;105:2443-48 (P-V)
13. Aladjidi N, Leverger G, Leblanc T et al. New insights into childhood autoimmune hemolytic anemia: a french national observational study of 265 children. Hematologica 2011;96(5):655-663 (P-V)
14. Gaspar HB, Aiuti A et al. How i treat ADA deficiency. Blood 2009;114:3524-32 (Review)
15. AIEOP Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica. CSS Immunodeficienze Primitive. Sindrome di Wiskott-Aldrich e Piastrinopenia X recessiva. Raccomandazioni per la diagnosi e la terapia. 2004 (Opinioni di Esperti)

16. Ochs HD, Filipovich AH, et al. Wiskott-Aldrich Syndrome: Diagnosis, Clinical and Laboratory manifestations, and Treatment. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:84-90 (Review)
17. Chapel H, Cunningham-Rundles C. Update in understanding Common Variable Immunodeficiency Disorders (CVIDs) and management of patients with these conditions. *Br J Haematol* 2009;145:709-727 (Review)
18. Chapel H, Lucas M et al. Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes. *Blood* 2008;112:277-285 (Review)
19. Cunningham-Rundles C. Autoimmune Manifestations in Common Variable Immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2008;28(S1):42-45 (Review)
20. Bussel GD, Cunningham-Rundles C et al. Efficacy and safety of rituximab in common variable immunodeficiency-associated immune cytopenias: a retrospective multicentre study on 33 patients. *Br J Haematol* 2011;155 (4):498-508 (AP-III)
21. Wang J, Cunningham-Rundles C. Treatment and outcome of autoimmune hematologic disease in common variable immunodeficiency (CVID). *J Autoimmun* 2005;2. (Review)
22. Canale VC, Smith CH. Chronic lymphadenopathy simulating malignant lymphoma. *J Pediatr* 1967;70(6):891-9 (A-V)
23. Strauss SE, Jaffe ES, Puck JM et al. The development of lymphoma in families with autoimmune lymphoproliferative syndrome with germline Fas mutation and defective lymphocyte apoptosis. *Blood* 2001;98(1):194-200 (A-IV)
24. Worth A, Thrasher A, Gaspar HB. Autoimmune lymphoproliferative syndrome: molecular basis of disease and clinical phenotype. *Br J Haematol* 2006;133:124-40 (Review)
25. Neven B, Magerus-Chatinet A, Florkin B et al. A survey of 90 patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome related to TNFRSF6 mutation. *Blood* 2011;118:4798-807 (AP-V)
26. Magerus-Chatinet A, Stolzenberg MC et al. FAS-L, IL10, and double-negative CD4-CD8-TCRalpha/beta+ T cells are reliable markers of autoimmunity lymphoproliferative syndrome (ALPS) associated with FAS loss of function. *Blood* 2009; 113:3027-3030 (AP-V)
27. Oliveira JB, Bleesing JJ, Dianzani U et al. Revised diagnostic criteria and classification for the autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS): report from the 2009 NIH International Workshop. *Blood* 2010; 116:35-3 (Opinion di Esperti)
28. Teachey DT, Seif AE, Grupp SA. Advance in the management and understanding of autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS). *Br J Haematol* 2010;148:205-16 (Review)
29. Rao VK, Oliveira JB. How to treat autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Blood* 2011;118:5741-51 (Review)
30. Teachey DT, Greiner R, Seif A. Treatment with sirolimus results in complete response in patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Br J Haematol* 2009;145(1):101-106 (P-V)

17. AEA POST TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE

Descrizione

È una delle possibili complicanze post trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (allo-TCSE), secondaria ad un meccanismo di disregolazione del sistema immunitario: reazione autoimmune del trapianto contro il suo stesso prodotto con emolisi autoimmune. In particolare, i linfociti del donatore producono anticorpi diretti contro gli antigeni dei globuli rossi (GR) dello stesso donatore.

Dati su popolazione di adulti allo-TCSE riportano una incidenza dell'AEA del 3-5%, maggiore rispetto all'incidenza attesa nella popolazione non TCSE, in cui è considerata un evento raro (1). Anche **per la popolazione pediatrica allo-TCSE l'incidenza varia dal 3% al 5%**, quest'ultima in pazienti a 6 mesi da allo-TCSE T-depleto (2,3). Più recentemente, un lavoro su una popolazione di pazienti pediatrici post allo-TCSE per patologie oncologiche e non, ha riportato un'incidenza del 6%, con un tempo medio di comparsa di 4 mesi post allo-TCSE; la mortalità è risultata essere elevata, probabilmente indotta anche dall'immunosoppressione cui questi pazienti sono sottoposti per il trattamento dell'anemia emolitica autoimmune; la frequenza è maggiore nei pazienti con disordini metabolici rispetto ai pazienti affetti da patologia oncologica (4). Il tempo medio di insorgenza dell'emolisi post allo-TCSE sembra essere maggiore nei pazienti che mostrano nel siero la presenza di anticorpi caldi (intervallo di 6-18 mesi dal TCSE) rispetto a coloro che presentano anticorpi freddi (intervallo di 2-8 mesi dal TCSE). Una maggiore incidenza di anemia emolitica autoimmune è stata riportata dopo allo-TCSE da cordone (5-7) e nei trapianti aploidentici T-depleti: in particolare, in una casistica di 41 pazienti con SCID sottoposti ad aploTCSE si è avuta una frequenza di AEA del 19,5% (8).

Tra le forme di AEA sono da annoverare anche quelle **correlate alla GVHD cronica** (5,9-11).

Tra le maggiori complicanze dell'anemia emolitica autoimmune da segnalare:

- tromboembolismo: la profilassi con anticoagulanti non è strettamente raccomandata nei pazienti con AEA, sebbene numerosi dati della letteratura mostrano un aumentato rischio di trombosi in corso di AEA, con percentuali variabili dall'8% al 27% (12,13). Inoltre, la presenza di anticorpi antifosfolipidi indentificherebbe un sottogruppo di pazienti a più alto rischio di tromboembolismo;
- malattie linfoproliferative: è noto che pazienti affetti da malattie linfoproliferative, specie leucemia linfatica cronica, hanno un rischio elevato di sviluppare AEA. Viceversa, in letteratura sono riportati casistiche di pazienti affetti da AEA che hanno sviluppato malattie linfoproliferative (leucemia linfocitica cronica, linfomi non Hodgkin B e T); questo probabilmente si correla alla cronica stimolazione antigenica che può condurre successivamente alla trasformazione in senso neoplastico (14,15)

Nella diagnosi differenziale vanno considerate anche le forme di anemia emolitica alloimmune da incompatibilità dei gruppi AB0/Rh tra donatore e ricevente; in questi casi i linfociti del donatore producono anticorpi diretti contro gli antigeni esposti sui GR del ricevente: "*passenger lymphocyte syndrome*". Tra i fattori predisponenti vengono annoverati:

- profilassi della GvHD con ciclosporina (CsA) senza methotrexate o altro agente in grado di inibire anche la popolazione B cellulare, in quanto la CsA potrebbe non essere sufficiente da sola a bloccare la proliferazione linfocitaria e si creerebbe uno squilibrio tra

T e B linfociti: da una parte i linfociti del donatore producono isoemoagglutinine in grado di reagire contro i GR del ricevente (emolisi) (16), dall'altro i linfociti residui del ricevente continuano a produrre isoemoagglutinine che reagiscono contro i precursori midollari eritroidi del donatore riconosciuti estranei (Pure Red Cell Aplasia);

- utilizzo delle cellule staminali periferiche piuttosto che di quelle midollari (tale fenomeno non sembra essere associato all'uso delle cellule cordonali);
- condizionamento ad intensità ridotta; diversità HLA;
- donatore di sesso femminile (16, 17).

Solitamente tale fenomeno si verifica entro le prime settimane dall'infusione delle CSE; tuttavia possono verificarsi fenomeni di emolisi alloimmune tardiva nei casi in cui cellule del donatore e cellule del ricevente continuino a coesistere: casi di chimerismo misto (emolisi anche a distanza di mesi dal trapianto) (18-20).

Indicativo di AEA post TCSE è una riduzione dei livelli di Hb più o meno rapida in un paziente che ha raggiunto lo stabile attecchimento anche della serie rossa o che ha nuovamente bisogno di emotrasfusioni dopo averne raggiunto l'indipendenza, in assenza di altre cause scatenanti note. A questo, di aiuto sono la positività del DAT, con il riscontro di anticorpi caldi (IgG) o, più raramente, freddi (IgM) e frazione del complemento diretti contro gli antigeni dei GR (4), la morfologia eritrocitaria allo striscio periferico, insieme ai classici segni di emolisi (aumento della bilirubina indiretta, reticolocitosi, aumento dell'LDH, riduzione dell'aptoglobina); va comunque sottolineato che tali parametri, specie nel paziente post TCSE precedentemente sottoposto a chemioterapia e immunosoppressione, possono anche non essere alterati (4,21). Altri elementi utili al fine di indirizzare la diagnosi verso una forma autoimmune sono: dosaggio delle isoemoagglutinine presenti nelle forme alloimmuni (16,17), sottopopolazioni linfocitarie che mostrano la disregolazione T-cellulare nelle forme autoimmuni (riduzione dei CD4+, aumento dei CD8+ e marcata inversione del rapporto CD4+/CD8+), analisi del chimerismo (chimerismo misto: più tipico nelle forme di anemia alloimmune) (16).

Terapia

Per quanto riguarda una possibile prevenzione, utile sembrerebbe ridurre il prima possibile l'immunosoppressione con CsA, proprio per favorire una buona ricostituzione immunologica.

Per quanto riguarda il trattamento delle AEA, non esistono ancora protocolli standardizzati nelle forme post TCSE, in cui le comuni terapie immunosoppressive non hanno spesso efficacia (4). Le strategie terapeutiche riportate in letteratura riguardano, in prima linea l'uso di **steroidi** (metilprednisolone a 2 mg/Kg/die) +/- **IG ev** (2 g/Kg e.v. in due giorni) e in seconda linea la splenectomia. Ulteriori possibili terapie riguardano diversi farmaci immunosoppressori (globuline antitimociti, ciclofosamide, micofenolato mofetile, ciclosporina, tacrolimus, sirolimus), vincristina, plasmaferesi (22, 23), immunoassorbimento (24), riduzione della profilassi con ciclosporina per la GVHD per le forme da alloimmunizzazione (25, 26, 27), eritropoietina (28, 29, 30), infusione dei linfociti del donatore (31).

In letteratura diversi lavori eseguiti su pazienti adulti e pediatrici non mostrano risultati soddisfacenti con le terapie precedentemente riportate. Viceversa, dall'esperienza del trattamento delle AEA non TCSE correlate (32, 33, 34, 35, 36, 37), l'impiego del **rituximab** (375 mg/mq per 1 volta alla settimana per 2-4 settimane) nel trattamento delle AEA post TCSE ha confermato risultati discreti sia tra gli adulti sia nei pazienti pediatrici, consigliando l'impiego di tale farmaco già **in seconda linea**, qualora non si sia ottenuta risposta al

trattamento con steroidi +/- IG ev prima ancora del ricorso alla splenectomia (20, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45).

Di più recente impiego nel trattamento delle AEA post TCSE è l'alemtuzumab (antiCD52), visto l'iniziale esperienza di alcuni gruppi che hanno utilizzato tale farmaco in forme di AEA non TCSE correlate con ottenimento di discreti risultati (46), i dati pubblicati sono ancora insufficienti (47).

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ Le AEA post TCSE vanno poste in diagnosi differenziale con le forme alloimmuni **8,8 - A**
- ◆ In caso di AEA post trapianto si raccomandano esami aggiuntivi quali: analisi ricerca delle isoemoagglutinine nel siero del paziente, studio del chimerismo, studio delle sottopopolazioni linfocitarie **8,6 - B**
- ◆ Il trattamento dell'AEA post TCSE è simile a quello delle AEA non TCSE-correlate **8,6 - A**

Bibliografia

1. Gehrs BC, Friedberg RC. Autoimmune hemolytic anemia. Am J Haematol. 2002;69(4):258-71 (Review)
2. Chen FE, Owen I, Savage D, Roberts I, Apperley J, Goldman JM, Laffan M. Late onset haemolysis and red cell autoimmunisation after allogeneic bone marrow transplant. Bone Marrow Transplant. 1997;19(5):491-5 (Review)
3. Drobyski WR, Potluri J, Sauer D, Gottschall JL. Autoimmune hemolytic anemia following T cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation. Bone Marrow Transplant. 1996;17(6):1093-9 (A-V)
4. O'Brien TA, Eastlund T, Peters C, Neglia JP, Defor T, Ramsay NK, Scott Baker K. Autoimmune haemolytic anaemia complicating haematopoietic cell transplantation in paediatric patients: high incidence and significant mortality in unrelated donor transplants for non-malignant diseases. Br J Haematol. 2004;127(1):67-75 (P-V)
5. Sevilla J, González-Vicent M, Madero L, Díaz MA. Acute autoimmune hemolytic anemia following unrelated cord blood transplantation as an early manifestation of chronic graft-versus-host disease. Bone Marrow Transplant. 2001;28:89-92 (P-V)
6. Urban C, Benesch M, Sovinz P, Schwinger W, Lackner H. Fatal Evans' syndrome after matched unrelated donor transplantation for hyper-IgM syndrome. Eur J Haematol. 2004;72:444-447. (P-V)
7. Page KM, Mendizabal AM, Prasad VK, Martin PL, Parikh S, Wood S, Sempowski GD, Szabolcs P, Kurtzberg J. Posttransplant autoimmune hemolytic anemia and other autoimmune cytopenias are increased in very young infants undergoing unrelated donor umbilical cord blood transplantation. Biol Blood Marrow Transplant. 2008;14(10):1108-1117 (P-V)
8. Daikeler T, Labopin M, Ruggeri A, Crotta A, Abinun M, Hussein AA, Carlson K, Cornillon J, Diez-Martin JL, Gandemer V, Faraci M, Lindemans C, O'Meara A, Mialou V, Renard M, Sedlacek P, Sirvent A, Socié G, Sora F, Varotto S, Sanz J, Voswinkel J, Vora A, Yesilipek MA, Herr AL, Gluckman E, Farge D, Rocha V. New autoimmune diseases after cord blood transplantation: a retrospective study of EUROCORD and the Autoimmune Disease Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Blood. 2013;121(6):1059-64 (AP-V)

9. Horn B, Viele M, Mentzer W, Mogck N, DeSantes K, Cowan M. Autoimmune hemolytic anemia in patients with SCID after T cell-depleted BM and PBSC transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1999;24:1009-1013 (P-V)
10. Godder K, Pati AR, Abhyankar SH, Lamb LS, Armstrong W, Henslee-Downey PJ. De novo chronic graft-versus-host disease presenting as hemolytic anemia following partially mismatched related donor bone marrow transplant. *Bone Marrow Transplant.* 1997;8:813-817 (V)
11. Hartert A, Willenbacher W, Günzelmann S, Roemer E, Basara N, Fauser AA, Kiehl MG. Successful treatment of thrombocytopenia and hemolytic anemia with IvIG in a patient with lupus-like syndrome after mismatched related PBST. *Bone Marrow Transplant.* 2001;27:337-340. (A-V)
12. Sanz J, Arriaga F, Montesinos P, Ortí G, Lorenzo I, Cantero S, Puig N, Moscardó F, de la Rubia J, Sanz G, Sanz MA. Autoimmune hemolytic anemia following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adult patients. *Bone Marrow Transplant.* 2007;39:555-61 (A-V)
13. Pullarkat V, Ngo M, Iqbal S, Espina B, Liebman HA. Detection of lupus anticoagulant identifies patients with autoimmune haemolytic anaemia at increased risk for venous thromboembolism. *Br J Haematol.* 2002;118:1166-1169 (V)
14. Sallah S, Wan JY, Hanrahan LR. Future development of lymphoproliferative disorders in patients with autoimmune hemolytic anemia. *Clin Cancer Res.* 2001;7:791-794 (A-V)
15. Landgren O, Gridley G, Check D, Caporaso NE, Morris Brown L. Acquired immune-related and inflammatory conditions and subsequent chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol.* 2007;139:791-798 (A-V)
16. Bolan CD, Childs RW, Procter JL, Barrett AJ, Leitman SF. Massive immune haemolysis after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with minor ABO incompatibility. *Br J Haematol.* 2001;112:787-95 (A-V)
17. Worel N, Greinix HT, Keil F, Mitterbauer M, Lechner K, Fischer G, Mayr W, Höcker P, Kalhs P. Severe immune hemolysis after minor ABO-mismatched allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation occurs more frequently after nonmyeloablative than myeloablative conditioning. *Transfusion.* 2002;42:1293-301 (A-V)
18. Bolan CD, Leitman SF, Griffith LM, Wesley RA, Procter JL, Stroncek DF, Barrett AJ, Childs RW. Delayed donor red cell chimerism and pure red cell aplasia following major ABO-incompatible nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 2001;98:1687-1694 (V)
19. Chao MM, Levine JE, Ferrara JL, Cooling L, Cooke KR, Hutchinson RJ, Yanik GA. Successful treatment of refractory immune hemolysis following unrelated cord blood transplant with Campath-1H. *Pediatr Blood Cancer.* 2008;50(4):917-9 (P-V)
20. Kako S, Kanda Y, Oshima K, Nishimoto N, Sato H, Watanabe T, Hosoya N, Motokura T, Miyakoshi S, Taniguchi S, Kamijo A, Takahashi K, Chiba S, Kurokawa M. Late onset of autoimmune hemolytic anemia and pure red cell aplasia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab. *Am J Hematol.* 2008;83(3):247-249 (A-V)
21. Valent P, Lechner K. Diagnosis and treatment of autoimmune haemolytic anaemias in adults: a clinical review. *Wien Klin Wochenschr.* 2008;120/5-6:136-151 (Review)
22. Worel N, Greinix HT, Schneider B, Kurz M, Rabitsch W, Knöbl P, Reiter E, Derfler K, Fischer G, Hinterberger W, Höcker P, Kalhs P. Regeneration of erythropoiesis after related- and unrelated-donor BMT or peripheral blood HPC transplantation: a major ABO mismatch means problems. *Transfusion.* 2000;40:543-550 (A-V)
23. Or R, Naparstek E, Mani N, Slavin S. Treatment of pure red-cell aplasia following major ABO-mismatched T-cell-depleted bone marrow transplantation. Two case reports with successful response to plasmapheresis. *Transpl Int.* 1991;4:99-102 (V)
24. Rabitsch W, Knöbl P, Prinz E, Keil F, Greinix H, Kalhs P, Worel N, Jansen M, Hörl WH, Derfler K. Prolonged red cell aplasia after major ABO-incompatible allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: removal of persisting isohemagglutinins with Ig-Therasorb immunoadsorption. *Bone Marrow Transplant.* 2003;1015-1019 (A-V)

25. Sniecinski IJ, Oien L, Petz LD, Blume KG. Immunohematologic consequences of major ABO-mismatched bone marrow transplantation. *Transplantation*. 1988;45:530-534 (V)
26. Petz LD. Immune hemolysis associated with transplantation. *Semin Hematol*. 2005;42:145-155 (Review)
27. Yamaguchi M, Sakai K, Murata R, Ueda M. Treatment of pure red cell aplasia after major ABO-incompatible peripheral blood stem cell transplantation by induction of chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transpl*. 2002;30:539-541 (A-V)
28. Heyll A, Aul C, Runde V, Arning M, Schneider W, Wernet P. Treatment of pure red cell aplasia after major ABO-incompatible bone marrow transplantation with recombinant erythropoietin. *Blood*. 1991;77:906 (lettera/commento)
29. Paltiel O, Cournoyer D, Rybka W. Pure red cell aplasia following ABO-incompatible bone marrow transplantation: response to erythropoietin. *Transfusion*. 1993;33:418-421 (V)
30. Martelli M, Ponchio L, Beguin Y, Meloni G, Mandelli F, Cazzola M. Pure red cell aplasia following peripheral stem cell transplantation: complete response to a short course of high-dose recombinant human erythropoietin. *Haematologica*. 1994;79:456-459 (A-V)
31. Bavaro P, Di Girolamo G, Oliosio P, Papalinetti G, Iacone A, Accorsi P, Di Bartolomeo P. Donor lymphocyte infusion as therapy for pure red cell aplasia following bone marrow transplantation. *Br J Haematol*. 1999;104:930-931 (A-V)
32. Zecca M, De Stefano P, Nobili B, Locatelli F. Anti-CD20 monoclonal antibody for the treatment of severe, immune-mediated, pure red cell aplasia and hemolytic anemia. *Blood*. 2001;97:3995-3997 (P-V)
33. Berentsen S, Tjønnfjord GE, Brudevold R, Gjertsen BT, Langholm R, Løkkevik E, Sørbo JH, Ulvestad E. Favourable response to therapy with the anti-CD20 monoclonal antibody rituximab in primary chronic cold agglutinin disease. *Br J Haematol*. 2001;115:79-83 (A-V)
34. Seeliger S, Baumann M, Mohr M, Jürgens H, Frosch M, Vormoor J. Autologous peripheral blood stem cell transplantation and anti-B-cell directed immunotherapy for refractory auto-immune haemolytic anaemia. *Eur J Pediatr*. 2001;160:492-496 (P-V)
35. Quartier P, Brethon B, Philippet P, Landman-Parker J, Le Deist F, Fischer A. Treatment of childhood autoimmune haemolytic anaemia with rituximab. *Lancet*. 2001;358:1511-1513 (P-V)
36. Zaja F, Iacona I, Masolini P, Russo D, Sperotto A, Prosdocimo S, Patriarca F, de Vita S, Regazzi M, Baccarani M, Fanin R. B-cell depletion with rituximab as treatment for immune hemolytic anemia and chronic thrombocytopenia. *Haematologica*. 2002;87:189-195 (A-V)
37. Shanafelt TD, Madueme HL, Wolf RC, Tefferi A. Rituximab for immune cytopenia in adults: idiopathic thrombocytopenic purpura, autoimmune hemolytic anemia, and Evans syndrome. *Mayo Clin Proc*. 2003;78:123-126 (V)
38. Corti P, Bonanomi S, Vallinoto C, Balduzzi A, Uderzo C, Cazzaniga G, Gaipa G, Dassi M, Perseghin P, Rovelli A. Rituximab for immune hemolytic anemia following T- and B-Cell-depleted hematopoietic stem cell transplantation. *Acta Haematol*. 2003;109:43-45 (P-V)
39. Ship A, May W, Lucas K. Anti-CD20 monoclonal antibody therapy for autoimmune hemolytic anemia following T cell-depleted, haplo-identical stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2002;29:365-366 (P-V)
40. Chakrabarti S. The place of rituximab in the treatment algorithm for post-stem cell transplant autoimmune hemolytic anemia. *Haematologica*. 2002;87:ELT23
41. Hongeng S, Tardtong P, Worapongpaiboon S, Ungkanont A, Jootar S. Successful treatment of refractory autoimmune haemolytic anaemia in a post-unrelated bone marrow transplant paediatric patient with rituximab. *Bone Marrow Transplant*. 2002;29:871-872 (P-V)
42. Sorà F, De Matteis S, Piccirillo N, Chiusolo P, Laurenti L, Putzulu R, Leone G, Sica S. Rituximab for pure red cell aplasia after ABO-mismatched allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation. *Transfusion*. 2005;45:643-645 (A-V)
43. Dungarwalla M, Marsh JC, Tooze JA, Lucas G, Ouwehand W, Pettengell R, Dearden CE, Gordon Smith EC, Elebute MO. Lack of clinical efficacy of rituximab in the treatment of autoimmune

neutropenia and pure red cell aplasia: implications for their pathophysiology. *Ann Hematol.* 2007;86:191-197 (A-V)

44. Raj K, Narayanan S, Augustson B, Ho A, Mehta P, Duncan N, Tauro S, Mahendra P, Craddock C, Mufti G. Rituximab is effective in the management of refractory autoimmune cytopenias occurring after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2005;35:299-01 (A-V)
45. Zecca M, Nobili B, Ramenghi U, Perrotta S, Amendola G, Rosito P, Jankovic M, Pierani P, De Stefano P, Bonora MR, Locatelli F. Rituximab for the treatment of refractory autoimmune hemolytic anemia in children. *Blood.* 2003;101:3857-61 (P-V)
46. Willis F, Marsh JC, Bevan DH, Killick SB, Lucas G, Griffiths R, Ouwehand W, Hale G, Waldmann H, Gordon-Smith EC. The effect of treatment with Campath-1H in patients with autoimmune cytopenias. *Br J Haematol.* 2001;114:891-898 (A-V)
47. Chao MM, Levine JE, Ferrara JL, Cooling L, Cooke KR, Hutchinson RJ, Yanik GA. Successful treatment of refractory immune hemolysis following unrelated cord blood transplant with Campath-1H. *Pediatr Blood Cancer.* 2008;50(4):917-9 (P-V)

18. AEA E GRAVIDANZA

Introduzione

Lo sviluppo di AEA nel corso della gravidanza è un evento raro. L'AEA può precedere la gravidanza od essere diagnosticata durante la gestazione; la gravidanza non sembra indurre un aumentato rischio di sviluppo di AEA o di recidiva di forme in remissione.

Un aumentato rischio di complicanze è invece documentato nella AEA in gravidanza legato sia alla patologia stessa (quali l'anemia, le infezioni materne in corso di trattamento steroideo), che di carattere ostetrico (quali la pre-eclampsia, il distacco di placenta, le emorragie nelle forme complesse di AEA, il parto pretermine, la rottura prematura delle membrane, il ritardo di crescita intra-uterino, il basso peso alla nascita e la mortalità perinatale). Il passaggio transplacentare di autoanticorpi materni può determinare nel feto-neonato il rischio di emolisi e sviluppo di anemia di grado variabile (1-6) Ancor più a rischio è la gravidanza nelle forme complesse di AEA, soprattutto in caso di piastrinopenia associata (sindrome di Evans) per il rischio di complicanze emorragiche nella madre e nel feto/neonato (3,7-10).

Controlli clinici

Obiettivo dei controlli clinici è identificare precocemente l'eventuale insorgenza di complicanze materne (anemia, pre-eclampsia, infezioni) o fetali (ritardo di crescita, segni di anemia) che possano richiedere un trattamento specifico.

Un team multidisciplinare composto da ematologi, ostetrici e pediatri esperti della patologia dovrebbe farsi carico della paziente alla diagnosi di AEA od alla eventuale ripresa della malattia in gravidanza.

I successivi controlli dovrebbero essere adattati sul singolo paziente, in base a diversi fattori (severità della AEA, risposta al trattamento, evidenza di interessamento fetale, complicanze del trattamento). La paziente in trattamento steroideo deve essere monitorata attentamente per:

- comparsa di segni clinici e laboratoristici imputabili a preeclampsia quali ipertensione (valori superiori a 140/90 mmHg), edemi e proteinuria;
- alterata tolleranza glucidica ed insorgenza di diabete gestazionale.

Le indagini di laboratorio, oltre a quelle routinariamente previste in gravidanza, includono:

- emocromo ed indici di emolisi (LDH, aptoglobina, bilirubina totale e frazionata, calcio, AST, ALT, gamma-GT) a cadenza mensile o anche più frequente a seconda della gravità della AEA;
- DAT mensile. Le immunoglobuline della classe IgM non attraversano la placenta e quindi non costituiscono un pericolo diretto per l'embrione od il feto;
- urinocoltura mensile, tampone vaginale completo ad inizio gravidanza ed al sesto mese: nelle pazienti in terapia steroidea.

Monitoraggio ecografico e cardiotocografico:

- nel primo trimestre di gravidanza: previsti i comuni controlli ecografici come routinariamente eseguiti per:
 - la datazione ecografica della gravidanza;

- l'eventuale esecuzione di test di screening prenatale o la diagnosi prenatale invasiva;
- tra le 18 e le 35 settimane di età gestazionale: valutazione ecografica e dopplerflussimetrica dei segni indiretti di anemizzazione fetale con cadenza variabile (ogni 2-4 settimane), a seconda della gravità del caso. I parametri valutati sono sostanzialmente tre:
 - controllo della crescita fetale ogni 4-5 settimane;
 - eventuale presenza di ascite od idrope fetale;
 - valutazione del picco di velocità sistolica in arteria cerebrale media (ACM-PSV): in caso di riscontro di un picco di velocità superiore a 1.50 MoM (tra 34-96 cm/sec a seconda dell'età gestazionale) in più rilevazioni si suppone un'anemizzazione fetale tale da richiedere la valutazione dell'emocromo fetale mediante cordocentesi (emoglobina fetale stimata 7-9 g/dL). Occorre ribadire come sia rarissima la possibilità di anemizzazione fetale e ancor più rara la necessità di dover effettuare una funicolocentesi;
- dopo le 35 settimane di età gestazionale:
 - valutazione ecografica dei segni indiretti di anemizzazione fetale con cadenza settimanale o quindicinale variabile a seconda della gravità del caso come descritto sopra; è dimostrato che dopo le 35 settimane di età gestazionale la misurazione del picco di velocità sistolica in arteria cerebrale media diventa meno affidabile motivo per cui è consigliabile non rifarsi solo a questo parametro per il monitoraggio fetale;
 - monitoraggio cardiotocografico a cadenza settimanale o quindicinale a seconda della gravità del caso clinico;
 - in caso siano patologici uno o più dei precedenti parametri si procede all'espletamento del parto (previa profilassi steroidea della sindrome da distress respiratorio neonatale ove indicato).

Terapie in corso di gestazione

Il trattamento di scelta della AEA in gravidanza è lo steroide. La molecola impiegata nei casi descritti in letteratura è generalmente il **prednisone per os alla dose di 1 mg/kg/die**, suddiviso in 2-3 somministrazioni giornaliere; nei casi gravi o con scarsa risposta allo steroide sono riportate dosi più elevate fino a 2 mg/Kg/die. Seppur il farmaco sia ben tollerato, è dimostrato il suo passaggio trans-placentare (anche se i livelli di concentrazione ematica fetale sono 8-10 volte inferiori rispetto a quelli materni). L'associazione tra il suo uso nel primo trimestre di gravidanza e malformazioni fetali (in particolare labio-palatoschisi) è indicata in alcuni casi. Comunque l'assunzione di steroide, anche nel secondo e terzo trimestre, è associato ad aumentato rischio di complicanze soprattutto di carattere ostetrico, sia nella gestante (pre-eclampsia, distacco di placenta, rottura prematura delle membrane, emorragie nelle forme complesse di AEA) sia nel nascituro (parto pretermine, ritardo di crescita intra-uterino, basso peso alla nascita, mortalità peri-natale) (11,12). Alla luce di tali dati, sebbene gli steroidi siano comunemente utilizzati in gravidanza, si raccomanda di limitarne il loro uso. In corso di trattamento steroideo, soprattutto se ad alte dosi o protratto nel tempo, è raccomandato un atteggiamento precauzionale contro le eventuali infezioni con tempestivo inizio di terapia antibiotica a largo spettro ed a dosaggio pieno in caso di infezione.

La risposta al trattamento steroideo riportato in corso di gravidanza è molto buona, superiore a quanto atteso nella AEA, con spesso remissione spontanea della malattia dopo il parto.

L'uso delle IG ev è una pratica diffusa in gravidanza, il farmaco è ben tollerato seppur sia dimostrato il suo passaggio transplacentare soprattutto dopo la 30° settimana di età gestazionale; l'efficacia nel trattamento delle AEA non è invece dimostrata. Il loro uso può essere considerato in associazione alla terapia steroidea alla dose di 0,5 g/Kg per 3-5 giorni, nei casi in cui la paziente sia in pericolo di vita. (13).

Tra i farmaci immunosoppressori, l'azatioprina si è dimostrata relativamente sicura in gravidanza ed in allattamento, sebbene un aumentato rischio di nascita pretermine e di anomalie congenite sia stato osservato in altre patologie come le malattie infiammatorie croniche intestinali e l'artrite reumatoide (11,14). Il suo uso è da considerarsi nei casi resistenti alla terapia steroidea anche se è improbabile che riesca a controllare la malattia se usata come unico trattamento.

Anche la ciclosporina è considerata un farmaco relativamente sicuro in gravidanza anche se è dimostrato il suo passaggio attraverso la barriera placentare con possibili effetti sullo sviluppo embrionale e fetale. Una metanalisi, basata prevalentemente su studi retrospettivi su madri trapiantate di fegato o affette da malattie infiammatorie intestinali, ha evidenziato come la ciclosporina sia associata con un aumentato rischio di parto pretermine, mentre un rischio aumentato di malformazioni fetali o di iposviluppo fetale non ha raggiunto una significatività statistica nell'uomo, mentre è dimostrata nel modello murino con un effetto dose-dipendente (15, 16). Peraltro nei bambini esposti in utero al farmaco, è raccomandato un follow-up a lungo termine della funzionalità renale e della pressione arteriosa in quanto il modello murino ha evidenziato possibili danni permanenti della funzionalità renale sia tubulare sia glomerulare (17).

Difficoltà di trattamento insorgono invece nei soggetti farmaco-resistenti per il potenziale teratogeno di molti farmaci proposti in seconda e terza linea le scarse informazioni a riguardo. In particolare non si dispongono di sufficienti dati di sicurezza sull'uso del rituximab in gravidanza. Uno studio di tossicologia sull'animale (somministrazione di rituximab a dosi differenti durante l'organogenesi nel macaco gravido) non ha mostrato effetti embriotossici o teratogeni; mentre ha evidenziato B-deplezione nel feto animale confermando il passaggio placentare di IgG (18). Nell'uomo, singole segnalazioni nell'uso del rituximab sia nel primo (19,20), sia nel secondo trimestre di gravidanza (21) nella patologia oncologica e non oncologica non riportano effetti teratogeni sul feto. In 2 di 3 casi, si è evidenziata una transitoria linfopenia e leucopenia nel neonato, priva di un corrispettivo clinico (19,20). Allo stato attuale tale farmaco è da utilizzarsi in gravidanza solo all'interno di protocolli sperimentali e non nella comune pratica clinica. (11).

Nelle forme gravi resistenti a plurime terapie farmacologiche ed in casi selezionatissimi, la splenectomia per via laparoscopica o laparotomica può essere considerata come opzione terapeutica preferenzialmente nel secondo trimestre di gravidanza (9, 22-25), come segnalato sia per altre patologie ematologiche come la PTI (26,27), sia in casistiche maggiori per altri interventi addominali (generalmente appendicectomie o colecistectomie) (28-30).

Qualora la terapia farmacologica non risulti in grado di controllare da sola l'AEA, trasfusioni di emazie concentrate possono essere richieste in caso di anemia significativa con compromissione dei parametri vitali nella gestante e/o segni di anemia/sofferenza fetale.

Travaglio, parto e puerperio

Il travaglio ed il parto dovrebbe essere previsto in un centro di III livello in grado di gestire gravidanze a rischio e dotato di unità di terapia intensiva neonatale.

In corso di travaglio è importante prevenire lo sviluppo di infezioni mediante profilassi antibiotica ad ampio spettro.

Non esistono controindicazioni all'espletamento del parto mediante la via vaginale, salvo diversa indicazione ostetrica. L'opportunità di effettuare una trasfusione prima del parto deve essere valutata in base al valore di emoglobina materno ed alla presenza di fattori di rischio di sanguinamento.

Durante il puerperio la paziente può necessitare di trasfusioni se ha subito una perdita ematica significativa. E' raccomandato uno stretto monitoraggio del periodo post-partum con attenzione alla comparsa di emorragie e/o infezioni nella madre.

AEA nel neonato

Nel periodo neonatale (prime quattro settimane di vita) si distinguono due forme di AEA, entrambe di rara osservazione: l'anemia emolitica "secondaria" ad autoanticorpi caldi trasmessi dalla madre per via transplacentare (vedi paragrafo seguente) e una forma idiopatica nella quale è il sistema immunitario del feto-neonato che forma autoanticorpi diretti verso i propri globuli rossi: AEA neonatale. Quest'ultima costituisce un evento del tutto eccezionale in quanto è generalmente riconosciuto che il feto e il neonato/lattante nelle prime settimane di vita, a causa dell'imaturità del sistema immunitario, non sono in grado di formare anticorpi diretti verso alloantigeni gruppo-ematici incompatibili o autoanticorpi diretti contro i propri antigeni gruppo-ematici.

Nei rarissimi casi di AEA neonatale descritti in letteratura l'anemia può presentare un decorso variabile sia per entità che per durata e può essere associata a iperbilirubinemia, anche marcata; gli autoanticorpi rilevati sono di tipo caldo, appartenenti alla classe IgG. Considerata la rarità dell'affezione e la particolare vulnerabilità del neonato non vi sono precise indicazioni per il trattamento che consiste nella trasfusione di emazie concentrate in presenza di grave anemia e nella somministrazione di steroidi e di immunoglobuline ev (31-34).

AEA neonatale da autoanticorpi materni

L'AEA da autoanticorpi caldi in gravidanza, analogamente ad altre patologie autoimmuni IgG-mediate (LES, PTI, etc.), può determinare nel feto-neonato una morbosità di grado variabile. Questa è legata al passaggio transplacentare delle IgG materne che determinano nel feto-neonato una patologia simile a quella materna, alle terapie impiegate nella gravida affetta da AEA o può essere conseguente al grave danno ipossico secondario alla eventuale presenza di grave anemia materna.

Le segnalazioni riportate in letteratura relative all'associazione AEA-gravidanza sono estremamente scarse; si calcola infatti una prevalenza di circa 1 caso su 50.000 gravidanze. Tuttavia la maggior parte degli Autori sono concordi nel ritenere il rischio fetale di lieve entità, qualora la gestante sia correttamente trattata. In genere la maggior parte delle gestanti con forme "pure" di AEA rispondono bene al trattamento con steroidi e i rispettivi neonati presentano nelle prime settimane di vita un grado lieve o assente di emolisi, anche in presenza di un DAT positivo alla nascita (4, 35-39). Questo in netto contrasto con le forme di anemia feto-neonatale da alloanticorpi (Malattia Emolitica del Neonato) che sono caratterizzate da ittero-anemia anche di grave entità, soprattutto in presenza di

alloimmunizzazione nei sistemi gruppo ematici Rh (-D; -c), Kell, etc. Una prognosi meno favorevole viene segnalata nei nati da madre con AEA associata a malattie linfoproliferative o con Sindrome di Evans' (7).

Indagini di laboratorio alla nascita e nel periodo neonatale

Le indagini possono essere effettuate su sangue di cordone o su sangue venoso periferico. Queste comprendono: emogruppo ABO ed Rh, DAT, test di eluzione, ricerca anticorpi liberi nel siero (TAI), emocromo, conta reticolociti, bilirubina totale e diretta. In presenza di anemia ($Hb < 13.0$ g/dl in 1^a giornata di vita) o di ittero patologico (bilirubina totale > 12 mg/dl in 2^a-3^a giornata nel neonato a termine) queste indagini vanno ripetute nelle ore/giorni successivi alla nascita per individuare la necessità del trattamento.

La diagnosi viene effettuata attraverso la positività del DAT e dell'eluato che mettono in evidenza la presenza di un'anticorpo caldo, panagglutinante, appartenente alla classe IgG.

E' da tener presente che un efficace trattamento materno in gravidanza può determinare la negatività del TAI materno e di conseguenza del DAT del neonato, il quale sarà quindi indenne da problemi emolitici (39).

Trattamento e Follow-up

La tempestività della diagnosi di AEA nelle forme insorte in gravidanza e l'efficacia del trattamento, sia nelle forme di AEA insorte prima della gravidanza che associate alla stessa, comportano generalmente una prognosi favorevole nel neonato, anche in presenza di un DAT positivo, che non richiede pertanto alcun trattamento (4, 35-39).

Nei nati da madre con AEA associata a malattie linfoproliferative o nella sindrome di Evans la prognosi è meno favorevole soprattutto per le complicanze pre- e perinatali legate alla nascita pretermine o a eventi emorragici che possono colpire sia la gestante che il feto-neonato (7).

Per le forme con anemia grave alla nascita ($Hb < 8$ g/dl) deve essere presa in considerazione la terapia trasfusionale con concentrato di GR secondo le modalità specifiche impiegate nel periodo neonatale (40). Nelle forme associate a iperbilirubinemia marcata il trattamento consiste nel sottoporre il neonato a fototerapia e nelle forme più gravi a exanguinotrasfusione (40, 41).

Nei nati da madre trattata con rituximab in gravidanza il monitoraggio ematologico è rivolto anche all'eventuale presenza di forme transitorie o prolungate di linfopenia e/o agammaglobulinemia (19-21).

Nei neonati con DAT positivo alla nascita, il test va ripetuto con intervalli di 3-4 settimane fino alla negativizzazione; questa viene rilevata in genere dopo 4-6 settimane di vita.

I neonati con AEA secondaria all'AEA materna non necessitano di un follow up prolungato in quanto è una patologia self limiting contrariamente alle forme di AEA idiopatiche dell'infanzia che necessitano di un prolungato follow-up per la possibile insorgenza di altre patologie autoimmuni o maligne (42).

Raccomandazioni

Provvedimenti appropriati

- ◆ Lo steroide è il farmaco di scelta nel trattamento della AEA in gravidanza, la molecola impiegata è il prednisone per os alla dose massima di 1 mg/kg/die, suddiviso in 2-3 somministrazioni giornaliere **7,8 - C**
- ◆ In caso di steroide-resistenza, in mancanza di dati di sicurezza su altri immunosoppressori, si può prendere in considerazione l'utilizzazione dell'azatioprina e della ciclosporina. (AEA in gravidanza) **7,5 - C**
- ◆ La splenectomia è da considerarsi in casi selezionati, preferibilmente nel secondo trimestre di gravidanza **7,6 - C**

Bibliografia:

1. Dhingra S, Wiener JJ, Jackson H. Management of cold agglutinin immune hemolytic anemia in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2007; 110: 485-86. (A-V)
2. Batalias L, Trakakis E, Loghis C et al. Autoimmune hemolytic anemia caused by cold agglutinins in a young pregnant woman. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2006; 19: 251-53. (A-V)
3. Phupong V, Sareepapong W, Witoonpanich P. Evans syndrome and pregnancy: a case report. *BJOG* 2004; 111: 274-76. (A-V)
4. Benraad CE, Scheerder HA, Overbeeke MA. Autoimmune haemolytic anaemia during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1994; 55: 209-11. (AP-V)
5. Tsai YC, Chang JM, Chang JC, et al. Idiopathic autoimmune hemolytic anemia during pregnancy. *J Formos Med Assoc* 1994; 93:328-31. (A-V)
6. Letts HW, Kredentser B. Thrombocytopenia, hemolytic anemia, and two pregnancies. Report of a case. *Am J Clin Pathol* 1968; 49: 481-86. (A-V)
7. Lefkou E, Nelson-Piercy C, Hunt BJ et al. Evans' syndrome in pregnancy: a systematic literature review and two new cases. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010; 149: 10-17. (AP-V)
8. Selcuk Tuncer Z, Buyukasik Y, Demirtas E, et al. Pregnancy complicated by Evan's syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001; 100: 100-01. (A-V)
9. Boren T, Reyes C, Montenegro R, Raimer K. A case of Evan's syndrome in pregnancy refractory to primary treatment options. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2007; 20: 843-45. (A-V)
10. Passi GR, Kriplani A, Pati HP, Choudhry VP. Isoimmune hemolysis in an infant due to maternal Evan's syndrome. *Indian J Pediatr* 1997; 64: 893-95. (P-V)
11. Koren G, Lishner M. Pregnancy and Commonly Used Drugs in Hematology Practice. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2010; 2010: 160-65. (A-III)
12. Park-Wyllie L, Mazzotta P, Pastuszak A, et al. Birth defects after maternal exposure to corticosteroids: prospective color study and meta-analysis of epidemiological studies. *Teratology* 2000; 62: 385-92. (P-III)
13. Clark AL. Clinical uses of intravenous immunoglobulin in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 1999;42:368-80. (A-V)
14. Cornish J, Tan E, Teare J, et al. A meta-analysis on the influence of inflammatory bowel disease on pregnancy. *Gut* 2007; 56: 830-37. (A-III)
15. Bar Oz B, Hackman R, Einarson T, Koren G. Pregnancy outcome after cyclosporine therapy during pregnancy: a meta-analysis. *Transplantation* 2001; 71(8):1051-55. (A-III)
16. Di Paolo S, Monno R, Stallone G, et al. Placental imbalance of vasoactive factors does not affect pregnancy outcome in patients treated with Cyclosporine A after transplantation. *Am J Kidney Dis* 2002;39(4):776-83. (A-III)
17. Tendron-Franzin A, Gouyon JB, Guignard JP, et al. Long-term effects of in utero exposure to

- cyclosporin A on renal function in the rabbit. *J Am Soc Nephrol* 2004 ;15(10) :2687-93. (A-III)
18. Mc Keever KR, Beyer J, Ortega S, Combs D, Tsusaki H. An ambryo-fetal development study in cynomolgus monkeys with rituximab, an anti-CD20 antibody (abstract). *Toxicol Sci* 2003; 72: 172. (V)
 19. Ojeda-Urbe M, Gilliot G; Jung G, et al. Administration of rituximab during the first trimester of pregnancy without consequences for the newborn. *J Perinatol* 2006; 26: 252-55. (AP-V)
 20. Kimby E, Sverrisdottir A, Elinder G. Safety of Rituximab therapy during the first trimester of pregnancy: a case history. *Eur J Haematol* 2004; 72: 292-95. (AP-V)
 21. Herold M, Schnohr S, Bittrich H. Efficacy and safety of a comined rituximab chemotherapy during pregnancy. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3439. (AP-V)
 22. Diagnosis and treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura: recommendations of the American Society of Hematology. The American Society of hematology ITP Practice Guideline Panel. *Ann Intern Med* 1997; 126: 319-26. (A-V)
 23. Sherke RR, Rao MS. Anaesthetic management of splenectomy in Evan's syndrome during pregnancy with pregnancy induced hypertension. *J Postgrad Med* 2001; 47: 196-98. (A-V)
 24. Gottlieb P, Axelsson O, Bakos O, Rastad J. Splenectomy during pregnancy: an option in the treatment of autoimmune thrombocytopenic purpura. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106: 373-75. (A-V)
 25. McMillan R. Therapy for adults with refractory chronic thrombocytopenic purpura. *Ann Intern Med* 1997; 126: 307-14. (A-V)
 26. Anglin BV, Rutherford C, Ramus R, Lieser M, Jones DB. Immune thrombocytopenic purpura during pregnancy: laparoscopic treatment. *JSLs* 2001; 5: 63-67. (A-V)
 27. Hardwick RH, Slade RR, Smith PA, Thompson MH. Laparoscopic splenectomy in pregnancy. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 1999; 9: 439-40. (A-V)
 28. Conron RW, Abbruzzi K, Cochrane SO, Sarno AJ, Cochrane PJ. Laparoscopic procedures in pregnancy. *Am Surg* 1999; 65: 259-63. (A-III)
 29. Reedy MB, Kallen B, Kuehl TJ. Laparoscopy during pregnancy: a study of five fetal outcome parameters with use of the Swedish Health Registry. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 673-79. (A-III)
 30. Curet MJ, Allen D, Josloff RK et al. Laparoscopy during pregnancy. *Arch Surg* 1996; 131: 546-50. (A-III)
 31. Hadnagy CS. Severe chronic autoimmune hemolytic anemia presenting haemolytic disease of the newborn. *Lancet* 1989; 2: 749-51. (P-V)
 32. Erler BS, Smith L, McQuiston D et al. Red cell autoantibody production in utero: a case report. *Transfusion* 1994; 34: 72-74. (P-V)
 33. Blackall DP, Liles LH, Talati AJ. In utero development of a warm-reactive autoantibody in a severely jaundiced neonate. *Transfusion* 2002; 42: 44-47. (P-V)
 34. Motta M, Cavazza A, Migliori C, Chirico G. Autoimmune Haemolytic Anemia in a newborn infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2003; 88: F341-42. (P-V)
 35. Baumann R and Rubin R. Autoimmune Hemolytic Anemia during pregnancy with hemolytic disease in the newborn. *Blood* 1973; 41: 293-97. (P-V)
 36. Ng SC, Wong KK, Raman S and Bosco J. Autoimmune haemolytic anaemia in pregnancy: a case report. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1990; 37: 83-85. (P-V)
 37. Gerson A, Young L, Ferroni J et al. Pregnancy and warm autoantibodies: a case report. *Am J Perinatol* 1996; 13: 19-20. (P-V)
 38. Williamson TD, Liles LH, Blackall DP. A maternal warm-reactive autoantibody presenting as a positive direct antiglobulin test in a neonate. *Immunohematology* 1997; 13: 6-8. (P-V)
 39. Regoli D, Pascone R, Leoncini S, Protano C, Casadei AM. Prognosi favorevole in tre nati da madre con anemia emolitica autoimmune in gravidanza. *Acta Neonatologica e Pediatrica* 2006; 20: 327. (P-V)
 40. Motta M, Casadei AM, Casani A et al. Raccomandazioni per la terapia trasfusionale in Neonatologia. *Acta Neonatologica e Pediatrica* 2006; 21: 9-22. (P-III)

41. American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of Hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics* 2004; 114: 297-316. (P-III)
42. Carapella de Luca E, Casadei AM, di Piero G et al. Auto-immune haemolytic anaemia in childhood: follow-up in 29 cases. *Vox Sang* 1979; 36: 13-20. (P-III)

19. FOLLOW UP DEL BAMBINO CON AEA

Le forme di AEA acute a rapida risoluzione sono comunemente differenziate dalle forme croniche, spesso di lunga durata e caratterizzate da emolisi costante o intermittente, con possibili recidive anche acute. Nelle fasi croniche i trattamenti immunosoppressivi determinano tossicità e complicanze secondarie inoltre la patologia stessa può evolvere in altre patologie autoimmuni o in forme clonali, oppure condurre al riscontro di una condizione di immunodeficienza primitiva associata. Un attento follow up di questi pazienti deve mirare alla sorveglianza della recidiva, della comparsa di altra malattia, delle tossicità farmacologiche.

19a. FOLLOW UP PER RECIDIVA DI AEA

Non esistono allo stato attuale elementi che possano guidare la tempistica dei controlli clinici ed ematologici da effettuare in soggetti che abbiano avuto e superato il primo episodio di anemia emolitica autoimmune. Sembra comunque che le probabilità di una guarigione definitiva siano più basse nei bambini che hanno sofferto di una AEA con DAT a specificità IgG/IgG+C3d (1). Appare anche probabile che i soggetti meno giovani, con anamnesi personale o familiare positiva per malattia immunologica, piastrinopenia o linfocitopenia abbiano minori possibilità di andare incontro a remissione completa duratura (1). E' anche possibile che i bambini di età inferiore a 2 anni abbiano più possibilità di sviluppare forme che andranno incontro a recidiva.(2) Al contrario sembrerebbe che una nascita pretermine o l'insorgenza dell'AEA in conseguenza di una infezione accertata si accompagnino ad una maggiore possibilità di remissione completa e persistente (1).

Raccomandazione

Provvedimento appropriato

- ♦ I bambini con anemia emolitica autoimmune post infettiva a rapida risoluzione non necessitano di programma di follow up a lungo termine **7,4 - D**

Bibliografia

1. Aladjidi N et al. New insights into childhood autoimmune haemolytic anemia: a French national observational study of 265 children. *Haematologica* 2011;96(5):655; (P-III)
2. Heisel MA, Ortega JA. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* 1983 Summer;5(2):147-52; (P-IV)

19b. FOLLOW UP VOLTO A VERIFICARE L'EVENTUALE INSORGENZA DI ALTRA PATOLOGIA.

Malattie clonali

E' noto che pazienti adulti con un disordine linfoproliferativo cronico mostrano un aumentato rischio di sviluppare AEA ma è vero anche il contrario, che pazienti con AEA manifestano un aumentato rischio di sviluppare successivamente una malattia linfoproliferativa (1-2).

L'AEA è associata negli adulti ad un aumento del rischio di sviluppare sindromi linfoproliferative croniche e tale associazione appare leggermente più pronunciata nel sesso maschile rispetto a quello femminile e maggiormente evidente nelle AEA di lunga durata (> 10 anni) (2-4).

Anche le neoplasie mieloidi mostrano una maggiore incidenza in pazienti con patologie autoimmunitarie, e, in particolare, esiste un'associazione dimostrata tra AEA e Leucemia mieloide acuta (5).

In età pediatrica, al momento, non c'è evidenza che l'AEA debba essere considerata una condizione paraneoplastica, pertanto i controlli mirati ad evidenziare l'insorgenza di una patologia neoplastica vanno effettuati solo in caso di sospetto clinico.

Malattia autoimmune/imunodeficit

E' certamente acclarata la stretta associazione tra citopenie immunologiche e patologie autoimmunitarie o immunodeficienze primitive (6).

Lo studio francese di Aladjidi eseguito su una casistica di 265 casi pediatrici di AEA ha riscontrato che nel 38% dei casi (100 pazienti) l'anemia emolitica rappresentava il primo segno di una patologia immunologica precedentemente non diagnosticata. In particolare 12 piccoli pazienti hanno manifestato una patologia autoimmune (tiroidite, epatite autoimmune, LES, vitiligine, malattia di Graves, epatite giganto-cellulare, morbo di Crohn), 71 una piastrinopenia autoimmune e 17 un quadro di immunodeficienza primitiva. (6)

I pazienti con AEA cronica e quelli con un DAT positivo per IgG/IgG+C3d sono certamente più a rischio di sviluppare patologie immunologiche nel follow up (6) e queste possono evidenziarsi anche dopo molti anni dalla diagnosi di AEA (7).

Raccomandazione

Provvedimento appropriato

- ◆ Si raccomanda, nei bambini con AEA con fattori di rischio di sviluppare una patologia immunologica, un programma di follow up che preveda il controllo di esami di valutazione come da work up iniziale (tabella 7 pag 11) da ripetere secondo l'andamento clinico e con cadenza almeno annuale

7,3 - D

Bibliografia

1. Hoffman PC. Immune hemolytic anemia-selected topics. American Society of Hematology, 2009. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2009:80-6. (Review)
2. Sallah S et al. Future development of lymphoproliferative disorders in patients with autoimmune hemolytic anemia. Clin Cancer Res, 2001. (A-IV)
3. Ekström Smedby K et al. Autoimmune disorders and risk of non-Hodgkin lymphoma subtypes: a pooled analysis within the InterLymph Consortium. Blood, 2008. (A-IV)
4. Andreson LA et al. Population-based study of autoimmune conditions and the risk of specific lymphoid malignancies. Int J Cancer, 2009 (A-IV).
5. Andreson LA et al. Risks of myeloid malignancies in patients with autoimmune conditions. Br J of Cancer, 2009;100:822 (A-IV)..
6. Aladjidi N et al. New insights into childhood autoimmune haemolytic anemia: a French national observational study of 265 children. Haematologica 2011;96(5):655; (P-III)
7. Notarangelo A. Primary immunodeficiencies (PIDs) presenting with cytopenias. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2009:139-43. (Review)

19c. FOLLOW UP PER INSORGENZA DI INFEZIONE/RIATTIVAZIONE VIRALE IN PAZIENTI IN TERAPIA CRONICA CON IMMUNOSOPPRESSORI.

Anche se mancano studi di evidenza sul rischio effettivo di riattivazione virale latente in pazienti con AEA trattati con terapia immunosoppressiva, in particolare con rituximab, alcuni reports e studi in soggetti HIV positivi (1) confermano il rischio di riattivazione virale in pazienti immunocompromessi; è stato inoltre riportato in pazienti trattati con rituximab anche il riscontro di alterata immunità verso patogeni non virali (*Babesia microti*, *Pneumocystis jirovecii*) (2).

In pazienti immunocompromessi in trattamento con agenti immunosoppressivi e/o rituximab con pregresso riscontro di infezione virale documentata (CMV, EBV, HSV) è opportuno controllare periodicamente eventuale riattivazione virale per un tempestivo trattamento.

Non è stata invece riscontrata riattivazione virale in pazienti immunocompromessi con positività per infezione da HBV sottoposti a profilassi antivirale durante il trattamento con Rituximab (3).

Nel settembre 2009 è stato riportato un caso con esito fatale di leucoencefalopatia multifocale progressiva (PML) in un paziente con artrite reumatoide (AR) trattato con rituximab, altri casi di PML sono stati riscontrati in seguito in pazienti con altre malattie autoimmuni sempre trattati con rituximab (4). La PML è una patologia demielinizzante del sistema nervoso centrale rara e progressiva, causata dall'attivazione del virus JC, che può essere causa di exitus o di invalidità grave. Il virus JC risiede in forma latente nel 40-80% di soggetti adulti sani e i fattori che portano all'attivazione dell'infezione latente non sono ancora pienamente compresi. La PML è stata riscontrata in pazienti HIV-positivi, in pazienti oncologici immunocompromessi, nei pazienti sottoposti a trapianto e anche in pazienti affetti da malattie autoimmuni in assenza di trattamento con rituximab. Non esistono interventi noti che possano prevenire in maniera affidabile o trattare adeguatamente la PML.

Bibliografia

1. Kaplan LD et al. Rituximab does not improve clinical outcome in a randomized phase 3 trial of CHOP with or without rituximab in patients with HIV-associated non-Hodgkin lymphoma: AIDS-Malignancies Consortium Trial 010. *Blood*. 2005;106(5):1538-43. (A-V)
2. Krause PJ et al. Persistent and relapsing babesiosis in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis*. 2008;46(3):370-6. (A-V)
3. Tsutsumi Y et al. Possible efficacy of lamivudine treatment to prevent hepatitis B virus reactivation due to rituximab therapy in a patient with non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol*. 2004 Jan;83(1):58-60. Epub 2003 Sep 26. (A-V)
4. Carson KR et al. Progressive multifocal leucoencephalopathy after rituximab therapy in HIV-negative patients: a report of 57 cases from the Research on Adverse Drug Events and Reports project. *Blood*. 2009;113(20):4834-40. (Review)

19d. FOLLOW UP IN PAZIENTI SOTTOPOSTI A SPLENECTOMIA

La splenectomia comporta un maggiore rischio di infezioni per un periodo di tempo non noto, sebbene sia ipotizzabile che l'aumento di rischio persista per tutta la vita. L'incidenza di batteriemia/sepsi (spesso indicate come OPSI ovvero Overwhelming Post Splenectomy Infection) è di 0,2-0,4% episodi per 100 soggetti per anno di esposizione(1,2). Anche se sono possibili episodi molto tardivi che sembrano confermare la durata indefinita del rischio, si deve però tenere presente che, in genere, il 30% degli episodi infettivi si verifica nel primo anno post-splenectomia e il 50% entro i primi due anni dalla splenectomia (3,4). La mortalità, di circa 0,08 episodi per 100 soggetti per anno di esposizione, è comunque maggiore nei bambini rispetto agli adulti (4) forse perchè la immunità umorale acquisita da bambini vicaria, almeno in parte, la funzione di difesa dalle infezioni svolta dalla milza. Una revisione della letteratura che includeva 5.902 pazienti splenectomizzati tra il 1952 ed il 1987 (quindi in epoca prevaccinale) indicava che **il rischio di sepsi era quasi 5 volte superiore in età pediatrica che in età adulta** (4,4% contro 0,9%), con una mortalità quasi 3 volte superiore (2,2% contro 0,8%). Tale rischio era superiore nei bambini sotto i 5 anni (percentuale di infezione 10,4%), e soprattutto sotto i 2 anni (15,7%) (5).

Esiste un diffuso consenso sulla necessità di effettuare, in previsione della splenectomia, una immunizzazione attiva contro germi capsulati (6) in quanto dopo splenectomia i lattanti ed i bambini sono particolarmente esposti al rischio di infezioni da piogeni (7-9).

I pazienti candidati alla splenectomia dovrebbero quindi essere sottoposti ad appropriate vaccinazioni contro i germi capsulati e, dopo la splenectomia, ad un programma di rivaccinazione già trattato nel capitolo vaccinazioni cui si rimanda (cap.3). (6, 10-14)

Riguardo alla profilassi antibiotica esiste un ampio consenso relativo al suo utilizzo, anche se permangono dubbi soprattutto per quanto riguarda la durata, alcuni studiosi consigliano di proseguirla per 2-5 anni dall'intervento (2,14) ma altri Autori la ritengono consigliabile per tutta la vita (11); controverso è anche il tipo di antibiotico da utilizzare. Riguardo quest'ultimo aspetto, una delle modalità più semplici e più praticata negli adulti prevede l'utilizzo dell'Amoxicillina a 250-500 mg/die in unica somministrazione (6). Nei bambini può essere invece utilizzabile un dosaggio di 10-20 mg/kg/die sempre in monosomministrazione (2). La maggior parte degli studiosi ed il Comitato per le Malattie Infettive della Accademia Americana di Pediatria consigliano, nei soggetti allergici all'amoxicillina, l'impiego dei macrolidi o del cotrimossazolo (4,11):

- Eritromicina: 125 mg/die nei bambini inferiori a due anni di età; 250 mg/die nei bambini di età fra i 2 e gli 8 anni; 250-500 mg/die nei bambini di età superiore ad 8 anni e negli adulti.
- Cotrimossazolo 5 mg di TMP/kg/die in monosomministrazione.

I soggetti splenectomizzati devono inoltre anche ricevere opportune indicazioni per la gestione delle infezioni e loro eventuale prevenzione (11, 14).

La splenectomia, sia in laparotomia che in laparoscopia(15), espone il paziente al rischio di sviluppare complicanze tromboemboliche ed in particolare tromboembolia del sistema venoso spleno-portale nelle due settimane successive all'intervento chirurgico. Anemie emolitiche congenite e milza di grosse dimensioni rappresentano i maggiori fattori di rischio per queste complicanze, descritte anche nei bambini (15-17). Sebbene non siano stati prodotti studi

randomizzati, risulta ragionevole sottoporre alla profilassi antitrombotica post-operatoria con eparina tutti i soggetti splenectomizzati, in particolare quelli con anemia emolitica, durante le due-quattro settimane successive all'intervento. **La tromboembolia del sistema portale va considerata in tutti i pazienti che nel postoperatorio presentano dolori addominali e febbre**, escludendo cause più comuni di questa sintomatologia. Appena posta diagnosi i pazienti dovrebbero essere sottoposti a trattamento endovenoso con eparina, seguito da terapia anticoagulante orale per un periodo variabile dai tre ai sei mesi successivi (18). Dati della letteratura documentano che le trombosi venose del sistema portale e mesenterico si verificano nel 5% di pazienti splenectomizzati che presentano una conta piastrinica > 650.000/ μ L, un volume splenico > 650 gr e disordini trombofilici associati. Livelli normali di D-dimeri sono associati ad un valore predittivo negativo per questa complicanza del 98% (19). Altra complicanza legata alla splenectomia è la trombocitosi post-operatoria, che non è chiarito se si associ o meno ad un reale aumento di rischio di trombosi venose e/o arteriose. Esistono comunque in letteratura indicazioni alla profilassi antitrombotica soprattutto in soggetti adulti splenectomizzati per altre anemie emolitiche (20): tali indicazioni in genere prevedono la somministrazione di basse dosi di acido acetilsalicilico nei soggetti con conta piastrinica \geq 1.000.000/mmc (21-22). **L'impiego di terapia profilattica per la malattia tromboembolica appare al momento molto controversa**, soprattutto perchè non sono del tutto chiariti i rapporti tra la trombocitosi che nel 75.8-93,5% dei casi segue l'intervento di splenectomia in età pediatrica (22-23) e l'insorgenza di fenomeni tromboembolici. Infatti i dati disponibili, che sembrano indicare un modesto aumento del rischio di fenomeni tromboembolici in caso di trombocitosi post-splenectomia, non sono derivati da studi disegnati specificamente, ma da revisioni retrospettive o studi osservazionali (18,24-26).

Raccomandazione

Provvedimento appropriato

- ◆ I pazienti splenectomizzati devono praticare una profilassi antibiotica con **8,1 - C** amoxicillina o con la penicillina im per almeno 2 anni

Bibliografia

1. Castagnola E, Fioredda F. Prevention of life-threatening infections due to encapsulated bacteria in children with hyposplenia or asplenia: a brief review of current recommendations for practical purposes. *Eur J Haematol*. 2003 Nov;71(5):319-26. (Review-Linee Guida)
2. Davies JM, Barnes R, Milligan D; British Committee for Standards in Haematology. Working Party of the Haematology/Oncology Task Force. Update of guidelines for the prevention and treatment of infection in patients with an absent or dysfunctional spleen. *Clin Med*. 2002 Sep-Oct;2(5):440-3. (Review-Linee Guida)
3. Robinette CD, Fraumeni JF. Splenectomy and subsequent mortality in veterans of the 1939-45 war. *Lancet* 1977; 2: 127-29. (A-IV)
4. Waghorn DJ. Overwhelming infection in asplenic patients: current best practice preventive measures are not being followed. *J Clin Pathol*. 2001 Mar;54(3):214-8. (A-III)
5. Holdsworth RJ, Irving AD, Cuschieri A: Postsplenectomy sepsis and its mortality rate: actual versus perceived risks. *Br J Surg* 1991; 78:1031-1038. (Review)
6. Di Sabatino A, Carsetti R, Corazza GR. Post-splenectomy and hyposplenic states. *Lancet* 2011;378:86. (Review-Linee Guida)

7. Eraklis AJ, Filler RM. Splenectomy in childhood: a review of 1413 cases. *J Pediatr Surg.* 1972 Aug-Sep;7:382-8. (Review)
8. Eraklis AJ, Kevy SV, Diamond LK, Gross RE. Hazard of overwhelming infection after splenectomy in childhood. *N Engl J Med.* 1967 Jun 1;276(22):1225-9. (Review)
9. Erickson WD, Burgert EO Jr, Lynn HB. The hazard of infection following splenectomy in children. *Am J Dis Child.* 1968 Jul;116(1):1-12. (Review)
10. American Academy of Pediatrics. Committee on Infectious Diseases. Policy statement: recommendations for the prevention of pneumococcal infections, including the use of pneumococcal conjugate vaccine (PneumovaxTM), pneumococcal polysaccharide vaccine, and antibiotic prophylaxis. *Pediatrics.* 2000; 106(2Pt1): 362-6. (Linee Guida)
11. Davies JM, Lewis MP, Wimperis J, Rafi I, Ladhani S, Bolton-Maggs PH. Review of guidelines for the prevention and treatment of infection in patients with an absent or dysfunctional spleen: prepared on behalf of the British Committee for Standards in Haematology by a working party of the Haemato-Oncology task force. *Br J Haematol.* 2011 Nov;155(3):308-17. (Review-Linee Guida)
12. J. M. Langley, L. Dodds, D. Fell, and G. R. Langley. Pneumococcal and influenza immunization in asplenic person: a retrospective population {based cohort study 1990{2002. *BMC Infectious Diseases,* (10):219{227, 2010. (A-IV)
13. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Recommendation of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) for use of quadrivalent meningococcal conjugate vaccine (MenACWY-D) among children aged 9 through 23 months at increased risk for invasive meningococcal disease. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2011 Oct 14;60(40):1391-2. (Review-Linee Guida)
14. Brigden ML. Detection, education and management of the asplenic or hyposplenic patient. *Am Fam Physician.* 2001 Feb 1;63(3):499-506, 508. (Review-Linee Guida)
15. Miniati DN, Padidar AM, Kee ST, Krummel TM, Mallory B. Portal vein thrombosis after laparoscopic splenectomy: an ongoing clinical challenge. *JSLs* 2005; 9:335-8. (P-V)
16. Skarsgard E, Doski J, Jaksic T, Wesson D, Shandling B, Ein S, Babyn P, Heiss K, Hu X. Thrombosis of the portal venous system after splenectomy for pediatric hematologic disease. *J Pediatr Surg* 1993;28:1109-12. (P-V)
17. Perel Y, Dhermy D, Carrere A, Chateil JF, Bondonny JM, Micheau M, Barbier R. Portal vein thrombosis after splenectomy for hereditary stomatocytosis in childhood. *Eur J Pediatr* 1999;158:628-30. (P-V)
18. Krauth MT, Lechner K, Neugebauer EAM, Pabinger I. The postoperative Splenic/portal vein thrombosis after splenectomy and its prevention- an unresolved issue. *Haematologica* 2008;93:1227-32. (Review)
19. Stamou KM, Toutouzas KG, Bramis J. Prospective study of the incidence and risk factors of postsplenectomy thrombosis of the portal, mesenteric and splenic veins. *Arch Surg* 2006;141:663-69. (A-III)
20. Mohren M., Markmann I. , Dworschak U. et Al. Thromboembolic Complications After Splenectomy for Hematologic Diseases. *American Journal of Hematology* 2004;76:143–147. (A-V)
21. Thalassaemia International Federation. Guidelines for clinical management of thalassaemia 2nd edition. November 2008. Chapter 10, 116-120. (Linee Guida)
22. Meekes I, van der Staak F, van Oostrom C. Results of splenectomy performed on a group of 91 children. *Eur J Pediatr Surg.* 1995 Feb;5(1):19-22. (P-IV)
23. Sarah B. Troendle, MD, Leah Adix, BS, CCRP, Shelley E. Crary, MD, and George R. Buchanan, MD. Laboratory Markers of Thrombosis Risk in Children With Hereditary Spherocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2007;49:781–785. (P-IV)
24. Ruben A. Mesa, David S. Nagorney, Susan Schwager, Jacob Allred, Ayalew Tefferi. Palliative Goals, Patient Selection, and Perioperative Platelet Management. *Cancer* 2006: 107:361. (A-IV)
25. Boxer MA, Braun J, Ellman L. Thromboembolic risk of postsplenectomy thrombocytosis. *Arch Surg* 1978;113:808-11 (A-IV)

26. Traetow WD, Fabri PJ, Carey LC. Changing indications for splenectomy. 30 years' experience. Arch Surg. 1980;115(4):447-51. (A-IV)

19e. FOLLOW UP IN PAZIENTI IN TERAPIA CRONICA CON STEROIDI

La terapia steroidea a lungo termine è spesso gravata da un largo spettro di effetti collaterali che in alcuni casi possono assumere entità clinica rilevante, a volte invalidante. E' necessario prevenire, quando possibile, tali complicanze e riconoscerle per poter mettere in atto i sussidi terapeutici del caso. In corso di terapia steroidea, in particolare, si possono avere:

Effetti sull'osso

E' dimostrato che la terapia steroidea, sia direttamente (inibizione della azione degli osteoblasti) (1) che indirettamente, sopprime la sintesi dell'osso promuovendone il riassorbimento; è altresì noto che tale effetto ha inizio precocemente, già nei primi tre mesi di terapia, raggiungendo il massimo entro sei mesi, per essere seguito successivamente da un più lento ma continuo riassorbimento osseo (2). Tale fenomeno coinvolge dapprima l'osso trabecolare e in un secondo momento quello corticale (3). Inoltre, il rischio di **osteopenia/osteoporosi** e conseguenti fratture si correla maggiormente con la dose giornaliera di steroide piuttosto che con quella cumulativa (2). La specifica azione sui condrociti, peraltro, riducendone la proliferazione, porta ad una riduzione nella crescita ossea lineare, in particolar modo se l'assunzione di corticosteroidi avviene in età prepubere (4). I dati della letteratura dimostrano che il riassorbimento osseo è evidente anche in età pediatrica e che tale fenomeno è indipendente dalla patologia di base (5). Alcuni Autori, in considerazione del fatto che gli steroidi inducono anche un bilancio negativo del calcio (6), raccomandano il dosaggio del calcio sierico e urinario e dei livelli circolanti di vitamina D nonché la supplementazione di calcio e vitamina D (2,5,8). Altri Autori suggeriscono di prendere in considerazione l'impiego dei bifosfonati in quei bambini o adolescenti nei quali abbiano fallito tutte le altre misure terapeutiche attuate per migliorare l'osteopenia (5,9).

Disordini muscolo-scheletrici

La **miopatia** è un disturbo piuttosto frequente determinato da un'atrofia dei muscoli, soprattutto della gamba e della spalla, in seguito ad una ridotta sintesi delle proteine muscolari indotta dalla insulino-resistenza causata dagli steroidi. Generalmente si risolve dopo la sospensione della terapia, ma talvolta sono necessari anche molti mesi (13). Dai dati attuali della letteratura non è possibile raccomandare nulla a tale proposito se non un programma di riabilitazione.

Complicanze oculari

Cataratta ed aumento della pressione oculare sono le possibili complicanze associate alla terapia steroidea (10). E' all'uopo consigliato un follow up oculistico.

Asse ipotalamo-ipofisi-surrene

Il rischio di soppressione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene è elevato soprattutto con l'impiego di corticosteroidi a media e lunga emivita e nella bi-somministrazione giornaliera; **l'effetto soppressore sembra invece ridotto con la somministrazione a giorni alterni** (11). L'ipercorticismismo cronico induce riduzione della secrezione del GH con blocco della crescita (1). Gli steroidi inibiscono anche la secrezione di TRH, LH ed FSH (1). E' pertanto raccomandata una **sorveglianza auxologica** per il controllo periodico della crescita staturale.

Ipertensione

I glucocorticoidi inducono un aumento della pressione arteriosa per via sia di una azione sul rene (ritenzione di sodio) che di una azione sui vasi (induzione di ipersensibilità verso agenti vasopressori e di resistenza verso l'azione vasodilatante dell'ossido nitrico); provocano inoltre una ipercreazione di angiotensina (1). Nonostante l'assenza di evidenze riguardanti l'entità e la durata degli episodi ipertensivi durante la terapia steroidea è ragionevole suggerire il **monitoraggio routinario della pressione arteriosa** ed il trattamento della stessa (11).

Immunosoppressione

Visti i noti effetti inibitori sulla risposta immune e infiammatoria degli steroidi è opportuno porre una maggiore attenzione alle infezioni che si presentino in un soggetto in terapia steroidea cronica e di attenersi a quanto consigliato per le vaccinazioni (vedi anche cap 3) (1,12).

Sindrome metabolica

I glucocorticoidi aumentano i livelli di glucosio a spese dell'aumento del catabolismo lipidico e proteico con conseguente incremento del rischio di intolleranza ai carboidrati o di diabete mellito tipo II (1) ed è quindi opportuno porre **particolare attenzione all'alimentazione** al fine di limitare i rischi di sovrappeso/obesità. Va consigliata l'attività fisica per ridurre l'effetto negativo della terapia steroidea sul metabolismo proteico, glucidico e lipidico (1,13).

Ulcera peptica

L'impiego di corticosteroidi determina un aumento della secrezione acida a livello gastrico con conseguente rischio di ulcera peptica. E' opportuno utilizzare, con la terapia steroidea, una **terapia antiacida** (1,14)

Disturbi psichiatrici-cognitivi

I glucocorticoidi inducono apoptosi in alcune regioni dell'encefalo, specie a livello dell'ippocampo e questo è probabilmente alla base dei possibili effetti collaterali di tipo psichiatrico, comprese le alterazioni del tono dell'umore e l'insonnia (1), sintomi che generalmente si autolimitano non necessitando di trattamenti particolari.

Bibliografia

1. Yaffe, Sumner J.; Aranda, Jacob V. Neonatal and Pediatric Pharmacology: Therapeutic Principles in Practice, 3rd Edition, 2005 Lippincott Williams & Wilkins
2. American College of Rheumatology 2010 recommendations for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis. Arthritis care & research, 2010. (Linee Guida)
3. Glucocorticoid-induced osteoporosis: a review on pathophysiology and treatment options. Minerva Med, 2008. (Review-Linee Guida)
4. Olney RC. Mechanism of impaired growth: effect of steroid on bone and cartilage. Horm Res, 2009. (Review)
5. Glucocorticoids and bone: some general remarks and some special observations in pediatric patient. Calcif Tissue Int, 2002. (P-III)
6. Stewart PM. The adrenal cortex. In: JD Wilson, DW Foster, eds. Williams textbook of endocrinology. Philadelphia: WB Saunders, 2003:491-551.
7. The effects of corticosteroids on bone growth and bone density. Ann Allergy Asthma Immunol, 2009. (Review)
8. Effects of nutritional supplementation on bone mineral status of children with rheumatic disease receiving corticosteroid therapy. J Rheumatol, 1994. (P-III)
9. How to prevent glucocorticoid-induced osteoporosis. Cleveland clinic journal of medicine, 2010. (Opinione di Esperti)
10. Intraocular pressure profile of a child on a systemic corticosteroid. Am J Ophthalmol, 2004. (P-V)
11. Adverse effects of systemic glucocorticosteroid therapy in infants with hemangiomas. Arch Dermatol, 2004. (P-IV)
12. Red Book: 2003 Report of the Committee of infectious diseases, 2003.
13. Hypertension and other morbidities with Cushing's syndrome associated with corticosteroids: a review, 2011. (Review-Linee Guida)
14. Perforated peptic ulcer disease in children: association of corticosteroid therapy, J Pediatr Surg, 1993. (P-IV)

19f. FOLLOW UP IN PAZIENTI TRATTATI CON RITUXIMAB

Il trattamento con rituximab può determinare una prolungata deplezione B-linfocitaria con conseguente deficit immunitario (1,2). La maggior parte degli studi sulla ricostituzione a breve e lungo termine dei B linfociti dopo rituximab riguardano adulti con artrite reumatoide o linfoma: i primi linfociti a ricostituirsi (mediamente dopo 100 giorni) sono i linfociti B immaturi, seguiti dai linfociti B naive, mentre i linfociti B-memoria CD27+ possono rimanere ridotti anche per anni (3,4). Sono riportate segnalazioni di correlazione tra recidiva precoce e ricostituzione rapida con maggior numero dei linfociti B-memoria in malattie autoimmuni come artrite reumatoide e lupus sistemico in pazienti adulti (5), e recentemente anche in un caso pediatrico di AEA. E' stata recentemente segnalata una **ipogammaglobulinemia persistente** con necessità di infusioni sostitutive di immunoglobuline in un bambino affetto da piastrinopenia immune associata a malattia linfoproliferativa autoimmune (6); in un altro caso pediatrico ritrattato con Rituximab per recidiva di anemia emolitica autoimmune steroide-dipendente lo studio sulla ricostituzione B linfocitaria ha confermato una rallentata e tardiva ripresa dei linfociti B-memoria (oltre 10 mesi) con deficit di IgM (7); nonostante ciò sono stati riportati pochi casi di complicanze infettive severe anche nei pazienti con linfoma (5,8). Si raccomanda **il controllo periodico, mensile, della ricostituzione B linfocitaria** dopo il termine del programma di somministrazione del rituximab. Non sono disponibili dati relativi all'impiego di vaccini quando i pazienti presentano deplezione dei linfociti B in seguito a trattamento con rituximab. Riguardo alle vaccinazioni, va valutato lo stato vaccinale del paziente eleggibile per il trattamento con rituximab e vanno seguite le linee guida locali/nazionali per le vaccinazioni nei confronti delle malattie infettive nel paziente immunocompromesso. Come regola generale **la vaccinazione deve essere completata almeno quattro settimane prima della prima somministrazione di rituximab e vaccini vivi non sono raccomandati** nei pazienti con deplezione dei linfociti B. La capacità di risposta vaccinale è risultata normale in un paziente pediatrico trattato con rituximab e steroide (7). Il trattamento di supporto utilizzato nella maggior parte dei casi pediatrici pubblicati include infusioni periodiche mensili di Immunoglobuline a dosaggio di profilassi indipendentemente dal dosaggio delle Ig circolanti per un periodo di almeno 4 mesi dopo il termine del rituximab oppure infusioni sostitutive ad hoc, basate sui livelli circolanti di immunoglobuline.

Bibliografia

1. Cooper N, Arnold DM. The effect of rituximab on humoral and cell mediated immunity and infection in the treatment of autoimmune diseases. Br J Haematol. 2010;149(1):3-13. (Review)
2. Liossis SN, Sfrikakis PP. Rituximab-induced B cell depletion in autoimmune diseases: potential effects on T cells. Clin Immunol. 2008;127(3):280-5. (Review)
3. Leandro MJ et al. Reconstitution of peripheral blood B cells after depletion with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2006;54(2):613-20. (A-V)
4. Roll P et al. Anti-CD20 therapy in patients with rheumatoid arthritis: predictors of response and B cell subset regeneration after repeated treatment. Arthritis Rheum. 2008;58(6):1566-75. (AP-V)
5. Cooper N, Arnold DM. The effect of rituximab on humoral and cell mediated immunity and infection in the treatment of autoimmune diseases. Br J Haematol. 2010 Apr;149(1):3-13. (Review)

6. Cooper N et al. Repeated courses of rituximab for autoimmune cytopenias may precipitate profound hypogammaglobulinaemia requiring replacement intravenous immunoglobulin. *Br J Haematol*. 2009 Jun;146(1):120-2. Epub 2009 May 9. (P-V)
7. van der Linde AA et al. B-lymphocyte reconstitution after repeated rituximab treatment in a child with steroid-dependent autoimmune hemolytic anemia. *Pediatr Rep*. 2011;3(4):e28 (P-V)
8. Lanini S et al. Risk of infection in patients with lymphoma receiving rituximab: systematic review and meta-analysis. *BMC Med*. 2011;9:36. (Review)

19g. FOLLOW UP IN PAZIENTI TRATTATI CON MICOFENOLATO, CICLOSPORINA, AZATIOPRINA

Micofenolato (MMF)

I controlli da eseguire nei pazienti in trattamento con MMF devono essere finalizzati a monitorizzare i possibili effetti collaterali del farmaco durante il trattamento e il follow up, in particolare appaiono molto comuni durante il trattamento tossicità ematologiche (leucopenia, anemia, piastrinopenia), patologie gastrointestinali (nausea, vomito, dolore addominale, diarrea), infezioni (sepsi, candidasi, infezioni delle vie urinarie, infezioni erpetiche) (1-3)

Il rischio più grave associato a una terapia a lungo termine con MMF è il possibile sviluppo di una neoplasia, soprattutto di linfomi (4,5).

Nel follow up, tra le tossicità tardive, utile un monitoraggio che preveda una sorveglianza immunologica, e, in caso di sospetto di una neoplasia secondaria, una valutazione specifica.

L'utilizzo di MMF non è raccomandato durante la gravidanza e deve essere limitato ai casi in cui non è disponibile un trattamento alternativo più idoneo. I dati provenienti dall'uso di MMF in donne in gravidanza sono limitati. Tuttavia, nei bambini di pazienti esposte a MMF in combinazione con altri immunosoppressori durante la gravidanza sono state riportate malformazioni congenite, incluse malformazioni alle orecchie, in particolare orecchio esterno/medio formato in modo anormale o assente (6-8).

Ciclosporina (CsA)

I principali effetti collaterali della CsA, da monitorizzare durante il trattamento e correlati al dosaggio del farmaco, sono prevalentemente a carico della funzionalità renale (aumento di azotemia e creatinina, iperpotassiemia), meno frequenti la tossicità cutanea (irsutismo, alterazioni ungueali), neurologica (tremore, cefalea, parestesie) e cardiologica (ipertensione) (9-11).

Più rare le tossicità a carico di altro organi e apparati (emopoietico, epatico, gastrointestinale). Utile durante il trattamento un monitoraggio ematologico, nefrologico, epatico e della pressione arteriosa oltre che un dosaggio sierico del farmaco che non deve superare i 300 ng/ml: valori più elevati sono associati ad aumento delle tossicità, specie quella renale.

Si raccomanda pertanto di controllare regolarmente i livelli ematici del farmaco per monitorizzare il trattamento.

Riguardo l'utilizzo della CsA in gravidanza, l'esperienza è limitata. Le donne gravide sottoposte a trapianto in trattamento con terapie immunosoppressive, CsA e regimi contenenti CsA compresi, sono a rischio di parto prematuro (< 37 settimane).

Ad oggi è disponibile una casistica limitata di osservazione su bambini di età fino a 7 anni che sono stati esposti a ciclosporina nella fase di vita uterina. In questi bambini la funzione renale e la pressione sanguigna sono risultati nella norma (12).

Non sono tuttavia stati condotti studi adeguati e controllati in donne gravide, pertanto, CsA non deve essere utilizzato in gravidanza a meno che il potenziale beneficio per la madre giustifichi il potenziale rischio fetale (13).

La ciclosporina passa nel latte materno, i bambini di madri in trattamento con CsA non devono quindi essere allattati al seno.

Azatioprina

Nei pazienti in trattamento con Azatioprina il controllo delle reazioni avverse, da monitorizzare durante il trattamento sono soprattutto la tossicità ematologica (leucopenia) e il conseguente rischio infettivo, quest'ultimo frequente nei pazienti trapiantati, possibile anche una tossicità gastrointestinale (nausea, anoressia, raramente vomito); meno frequente il possibile sviluppo di un'anemia macrocitica e ipercromica e una tossicità pancreatica (14,15).

La sospensione dell'Azatioprina e un'opportuna terapia di supporto risolvono, nella gran parte dei casi, l'evento patologico.

Nel follow up utile il monitoraggio per lo sviluppo di una neoplasia secondaria, soprattutto linfomi e neoplasie cutanee.

Il tipo, la frequenza e la gravità delle reazioni avverse dipendono dal dosaggio dell'azatioprina e dalla durata della terapia.

L'azatioprina non deve essere somministrata in gravidanza senza un'attenta valutazione del rapporto rischio/beneficio. L'azatioprina e i suoi metaboliti sono stati ritrovati a basse concentrazioni nel sangue fetale e nel liquido amniotico dopo la somministrazione alla madre. Leucopenia e/o trombocitopenia sono state riscontrate in alcuni neonati le cui madri avevano ricevuto l'azatioprina in gravidanza. Durante la gravidanza si consiglia di prestare una particolare attenzione al monitoraggio ematologico. Una riduzione temporanea della funzione immunitaria è stata osservata dopo l'esposizione del feto all'azatioprina in associazione al prednisone. Sono stati riportati casi di ritardo nella crescita intrauterina e di parto prematuro quando l'azatioprina e il prednisolone venivano somministrati contemporaneamente (13,16,17).

Bibliografia

1. Simmons WD, Rayhill SC, Sollinger HW. "Preliminary risk-benefit assessment of mycophenolate mofetil in transplant rejection. Drug Safety, vol 17, no 2, pp 75-92, 1997 (A-V)
2. Papadimitriou JC, Cangro CB, Lustberg A et al. "Histologic features of mycophenolate mofetil related colitis: a graft versus host disease-like pattern". International Journal of Surgical Pathology, vol 11, no 4, pp 295-302, 2003 (A-V)
3. Dykes DMH, Moore SR, Polk DB, Rosen MJ, Wills ML, Morris B, Maclin JS, Nogueira J, Katz A, Hunley TE, Pugh J, Saeed S. Mycophenolate Mofetil-related enterocolitis and weight loss: a Pediatric case series. Case Reports in Pediatrics, vol 2012 (2012), Article ID 624168. (P-V)
4. Tsang HH, Trendell-Smith NJ, Wu AK, Mok MJ. Diffuse large B cell Lymphoma of the central nervous system in mycophenolate mofetil-treated patients with systemic lupus erythematosus. Lupus. 2010 Mar;19(3): 330-3. (A-V)
5. O'Neill BP, Vernino S, Dogan A, Giannini C. EBV-associated lymphoproliferative disorder of CNS associated with the use of mycophenolate mofetil. Neuro Oncol. 2007 Jul;9(3):364-9 (A-V)
6. Koren G. Mycophenolate mofetil: emerging as a potential human teratogen. Can Fam Physician. 2008 Aug;54(8):1112-3. (A-V)
7. Klieger-Grossmann C, Chitayat D, Lavign S, Kao K, Garcia-Bournissen F, Quinn D, Luo V, Sermer M, Riordan S, Laskin C, Matoc I, Gorodischer R, Chambers C, Levi A, Koren G. Prenatal exposure to mycophenolate mofetil: an updated estimate. J Obstet Gynaecol Can. 2010 Aug;32(8):794-7 (A-V)
8. Hoeltzenbein M, Elefant E, Vial T, Finkel-Pekarsky V, Stephens S, Clementi M, Allignol A, Weber-Schoendorfer C, Schaefer C. Teratogenicity of mycophenolate confirmed in a prospective study of the European Network of Teratology Information Services. Am J Med Genet A. 2012 Mar: 158A(3):588-596 (A-V)
9. Kahan BD. Cyclosporine. N Eng J Med. 1989 Dec 21;321(25):1725-38 (Review)

10. Hino S, Takemura T, Okada M, Murakami K, Yagi K, Fukushima K et Yoshioka K. Follow up study of children with nephritic syndrome treated with a long-term moderate dose of cyclosporine. *Am J Kidney Dis.* 1998, 31, 932-939 (P-V)
11. Iijima K, Hamahira K, Tanaka R, Kobayashi A, Nozu K, Nakamura H et Yoshikawa N. Risk factors for cyclosporine-induced tubulointerstitial lesions in children with minimal change nephritic syndrome. *Kidney Int.* 2002, 61, 1801-1805 (P-V)
12. Cochat P, Decramer S, Robert-Gnansia E, Dubourg L, Audra P. Renal outcome of children exposed to cyclosporine in utero. *Transplant Proc.* 2004 Mar;36(2 Suppl):208S-2010S. (P-V)
13. Temprano KK, Bandlamudi R, Moore TL. Antirheumatic drugs in pregnancy and lactation. *Semin Arthritis Rheum.* 2005 Oct; 35(2):112-121. (Review)
14. Collins PW, Newland AC. Treatment modalities of autoimmune blood disorders. *Semin Hematol* 1992 Jan;29(1):64-74. (Review)
15. Lamers CB, Griffioen G, Van Hogezaand RA, Veenendaal RA. Azathioprine: an update on clinical efficacy and safety in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1999;34:111-115. (Review)
16. Zabala-Fernandez W, Barreiro de Acosta M, Echarrri A, Carpio D, Lorenzo A, Castro J, Martinez-Ares D, Pereira S, Martin-Granizo I, Corton M, Carracedo A, Barros F. A Pharmacogenetics Study of TPMT and ITPA Genes Detects a Relationship with Side Effects and Clinical Response in Patients with inflammatory Bowel Disease Receiving Azathioprine. *J Gastrointest Liver Dis*, Sept 2011, 20(3), 247-253. (AP-V)
17. PolifKa JE, Friedman JM. Teratogen Update: Azathioprine and 6-mercaptopurine. *Teratology* 2002 May;65(5):240-61. (Review)

19h. FOLLOW UP IN PAZIENTI TRATTATI CON CICLOFOSFAMIDE (EDX)

Tra gli effetti indesiderati della ciclofosfamide, da controllare durante il trattamento, il più frequente è la tossicità midollare che è dipendente dalla dose del farmaco e si verifica mediamente intorno al 10°-15° giorno dall'inizio della terapia. In concomitanza con i bassi valori di globuli bianchi, il paziente diventa più suscettibile alle infezioni, pertanto devono essere praticati controlli frequenti dell'emocromo per individuare riduzioni dei parametri ematologici che potrebbero richiedere terapia di supporto ed eventuale interruzione temporanea o definitiva del farmaco (1-3).

Un altro effetto indesiderato della ciclofosfamide è rappresentato dai possibili danni a livello vescicale, infatti alcuni metaboliti del farmaco sono responsabili di alterazioni a carico della mucosa della vescica con possibile comparsa di cistiti emorragiche. Al fine di evitare tali effetti, durante la somministrazione della ciclofosfamide il paziente deve essere idratato per svuotare frequentemente la vescica e deve essere utilizzato anche l'uromitexan, farmaco in grado di inattivare il metabolita tossico responsabile del danno vescicale (4).

Alte dosi di ciclofosfamide possono determinare nausea e vomito, per cui è necessaria l'utilizzazione di antiemetici.

Si può inoltre verificare alopecia che è in genere reversibile alla sospensione della terapia; possono inoltre comparire ulcere orali e genitali.

Trattamenti prolungati e con alte dosi di ciclofosfamide possono essere inoltre associati, a lungo termine, ad un **maggior rischio di sviluppo di neoplasie** e a **tossicità cardiologica** (miocardiopatia, necrosi) (5) **e/o polmonare** (6)

La ciclofosfamide è inoltre **controindicata durante la gravidanza** per i possibili effetti teratogeni (malformazioni e anomalie congenite) (7).

Bibliografia

1. Moyo VM, Smith D, Brodsky I, et al: High-dose cyclophosphamide for refractory autoimmune hemolytic anemia. Blood 2002;100: 704-706. (A-P)
2. Brodsky RA, Petri M, Smith BD, et al: Immunoablative high-dose cyclophosphamide without stem-cell rescue for refractory, severe autoimmune disease. Ann Intern Med 1998;129: 1031-1035. (A-V)
3. Ashley DM, Longee D, Tien R, Fuchs H, Graham ML, Kurtzberg J, Casey J, Olson J, Meier L, Ferrel L, Kerby T, Duncan-Brown M, Stewart E, Colvin OM, Pipas JM, McCowage G, McLendon R, Bigner DD, Friedman HS. Treatment of patient with pineoblastoma with high dose cyclophosphamide. Med Ped Oncol. 1996 Jun;26(6):387-392 (P-V)
4. Stillwell TJ, Benson RJ Jr. Cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis: a review of 100 patients. Cancer 61:451-457, 1988 (Review)
5. Ayash LJ et al. Cyclophosphamide pharmacokinetics: correlation with cardiac toxicity and response. J Clin Oncol 10:995-1000, 1992 (A-V)
6. Gupta S, Mahipal A. Fatal pulmonary toxicity after a single dose of cyclophosphamide. Pharmacotherapy. 2007 Apr;27(4):616-8 (A-V)
7. Lazalde B, Grijalva-Flores J, Guerrero-Romero F. Klippel-Feil Syndrome in a boy exposed inadvertently to cyclophosphamide during pregnancy: a case report. Birth Defects Research (Part A) 94:249-252 (2012) (P-V)