



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
ΜΠΣ Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, μια διαταραχή του ερυθροκυττάρου

Autoimmune hemolytic anemia, a red blood cell disorder

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

Βασίλειος Μπαλάσκας

Vasileios Balaskas

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Αναστάσιος Κριεμπάρδης

Anastasios Kriebardis

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2023



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences
Postgraduate program:
Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS

Autoimmune hemolytic anemia, a red blood cell disorder

Balaskas Vasileios
dml21019
dml21019@uniwa.gr

FIRST SUPERVISOR
Anastasios Kriebardis

SECOND SUPERVISOR
Sotirios Fortis

AIGALEO 2023

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 2 Οκτωβρίου 2023

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 ^{ος} Εξεταστής		Αναστάσιος Κριεμπάρδης
2 ^{ος} Εξεταστής		Σωτήριος Φόρτης

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος Μπαλάσκας Βασίλειος του Κυριάκου, με αριθμό μητρώου dml21019 φοιτητής του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ο Δηλών

Μπαλάσκας Βασίλειος

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική βιβλιογραφική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος «Βιοϊατρικές Μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση» του τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής.

Θα ήθελα να ευχαριστώ ιδιαίτερα τον επιβλέποντα μου Καθηγητή κ. Αναστάσιο Κριεμπάρδη για την καθοδήγηση και την πολύτιμη βοήθειά του στην συγγραφή της διπλωματικής μου εργασίας. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Ακαδημαϊκό Υπότροφο κ. Σωτήριο Φόρτη για την επίβλεψη της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω την Μιχαέλα και τους φίλους μου για την υποστήριξη και την συμπαράστασή τους κατά την διάρκεια της διπλωματικής εργασίας.

Τέλος ένα μεγάλο ευχαριστώ στην μητέρα μου για την συνεχή υποστήριξή της στις επιλογές και τους στόχους μου καθώς χωρίς εκείνη δεν θα είχα φθάσει σήμερα εδώ.

Αφιερώσεις

Στην αγαπημένη μου μητέρα και στην Μιχαέλα

Περίληψη

Η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία αποτελεί μια σπάνια νόσος του ανοσοποιητικού συστήματος. Πρόκειται για έναν σοβαρό τύπο αιμολυτικής αναιμίας που εμφανίζεται λόγω του ανοσοποιητικού συστήματος του οργανισμού που καταστρέφει τα δικά του ερυθρά αιμοσφαίρια. Ο οργανισμός παράγει ο ίδιος αυτοαντισώματα που στοχεύουν και καταστρέφουν τα ερυθροκύτταρα. Η καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων στην αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία μπορεί να επιτευχθεί με διάφορους μηχανισμούς όπως η λύση του συμπληρώματος, η φαγοκυττάρωση και η απόπτωση. Το συμπλήρωμα αποτελεί τον κύριο παράγοντα για την αυτοανοσία κατά των ερυθροκυττάρων. Η παθογένεση της αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας είναι πολύπλοκη και δεν είναι πλήρως κατανοητή. Ωστόσο, πιστεύεται ότι είναι το αποτέλεσμα ενός συνδυασμού γενετικών, περιβαλλοντικών και ανοσολογικών παραγόντων. Επιπλέον υποκείμενα αυτοάνοσα νοσήματα, λοιμώξεις και φάρμακα μπορεί να προκαλέσουν τη νόσο. Σημαντικό ρόλο στην παθογένεση συντελούν τα Β και Τ λεμφοκύτταρα. Η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία ταξινομείται ανάλογα με την θερμοκρασία που δρουν τα αυτοαντισώματα. Λόγω του ότι χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια, ποικίλα κλινικά και ανοσολογικά χαρακτηριστικά υπάρχει περιορισμός στην έρευνα. Η κλινική εικόνα της μπορεί να ποικίλλει ανάλογα και με την παρουσία ή όχι άλλων υποκείμενων νοσημάτων. Η διάγνωση της νόσου απαιτεί κλινική αξιολόγηση και εργαστηριακές εξετάσεις με πιο γνωστή την εξέταση αντισφαιρίνης. Ωστόσο υπάρχουν και άλλες πιο εξειδικευμένες διαγνωστικές εξετάσεις. Οι θεραπευτικές επιλογές για την αντιμετώπισή της χάρης και την εξέλιξη τις επιστήμης είναι ποικίλες όπως τα κορτικοστεροειδή, ανοσοκατασταλτικά φάρμακα και η σπληνεκτομή με πιο ελπιδοφόρα και πολύ αποτελεσματική την θεραπεία με μονοκλωνικό αντίσωμα. Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η βιβλιογραφική ανασκόπηση της αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας, η ανάλυση των συμπτωμάτων, η διάγνωση της ασθένειας και η ανάλυση των θεραπευτικών προσεγγίσεων.

Λέξεις κλειδιά: αιμόλυση, αυτοάνοσο, αυτοαντίσωμα, αναιμία, ερυθροκύτταρο, συμπλήρωμα

Abstract

Autoimmune hemolytic anemia is a rare disease of the immune system. This is a severe type of hemolytic anemia that occurs due to the body's immune system destroying its own red blood cells. The body itself produces autoantibodies that target and destroy red blood cells. The destruction of red blood cells in autoimmune hemolytic anemia can be achieved by various mechanisms such as complement lysis, phagocytosis, and apoptosis. The supplement is the main agent for autoimmunity against erythrocytes. The pathogenesis of autoimmune hemolytic anemia is complex and not fully understood. However, it is believed to be the result of a combination of genetic, environmental, and immunological factors. Additional underlying autoimmune diseases, infections and medications can cause the disease. B and T lymphocytes play an important role in pathogenesis. Autoimmune hemolytic anemia is classified according to the temperature at which the autoantibodies act. Due to the fact that it is characterized by great heterogeneity, various clinical and immunological characteristics, there is a limitation in research. Its clinical picture may vary depending on the presence or not of other underlying diseases. The diagnosis of the disease requires clinical evaluation and laboratory tests, the most well-known being the antiglobulin test. However, there are other more specialized diagnostic tests. The treatment options for the treatment of grace and the development of science are varied such as corticosteroids, immunosuppressive drugs and splenectomy with the most promising and very effective treatment with monoclonal antibody. The purpose of this diploma thesis is the literature review of autoimmune hemolytic anemia, the analysis of symptoms, the diagnosis of the disease and the analysis of therapeutic approaches.

Key words: hemolysis, autoimmune, autoantibody, anemia, erythrocyte, complement.

Περιεχόμενα

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας.....	iv
Ευχαριστίες	v
Αφιερώσεις	vi
Περίληψη	vii
Λέξεις κλειδιά:	vii
Abstract	viii
Συνοπτομογραφίες	xi
Πρόλογος.....	1
1. Εισαγωγή.....	3
1.1. Αναιμία	3
1.2. Αιμόλυση.....	4
1.3. Αυτοάνοσο Νόσημα	4
1.4. Το ευθροκύτταρο.....	5
1.5. Το σύστημα του συμπληρώματος	7
1.6. Ο ρόλος των αυτοαντισωμάτων στην αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία	7
1.6.1. Η ταξινόμηση των αυτοαντισωμάτων	8
2. Η παθογένεση της ΑΙΗΑ	11
2.1 Γενικά χαρακτηριστικά παθογένεσης της ΑΙΗΑ.....	11
2.2. Τα Β λεμφοκύτταρα στην παθογένεση της ΑΙΗΑ.....	11
2.3. Τα Τ λεμφοκύτταρα στην παθογένεση της ΑΙΗΑ.....	12
2.4. Ασθένειες στην παθογένεση της ΑΙΗΑ	13
2.5. Φάρμακα στην παθογένεση της ΑΙΗΑ	14
2.6. Περαιτέρω ταξινόμηση της ΑΙΗΑ.....	15
3. Διάγνωση	16
4. Επιδημιολογία της ΑΙΗΑ.....	20
5. Θεραπεία της ΑΙΗΑ.....	22
5.1 Θεραπεία στην θερμή ΑΙΗΑ	22
5.2 Θεραπεία στην ψυχρή ΑΙΗΑ	26
6. Ιστορική Αναδρομή της ΑΙΗΑ.....	28
7. Περιορισμοί έρευνας ΑΙΗΑ	29
8. Συμπέρασμα	30
Αναφορές.....	31

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
AIHA	Autoimmune hemolytic anemia	Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία
WAIHA	Warm autoimmune hemolytic anemia	Θερμή αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία
CAIHA	Cold autoimmune hemolytic anemia	Ψυχρή αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία
RBC	Red blood cell	Ερυθροκύτταρο
ROS	Reactive oxygen species	Δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS)
EPO	Erythropoietin	Ερυθροποιητίνη
TRALI	Transfusion-related acute lung injury	Οξεία πνευμονική βλάβη που σχετίζεται με την μετάγγιση
DAT	Direct antiglobulin test	Εξέταση άμεσης αντισφαιρίνης
IAT	Indirect antiglobulin test	Εξέταση έμμεσης αντισφαιρίνης
CP	Classical complement pathway	Κλασσική οδός συμπληρώματος
AP	Alternative complement pathway	Εναλλακτική οδός συμπληρώματος
LP	Lectin pathway	Οδός λεκτίνης
CA	Cold agglutinins	Ψυχρές συγκολλητίνες
CAD	cold agglutinin disease	Νόσος ψυχρής συγκολλητίνης
MCAD	Mixed cold agglutinin disease	Νόσος μεικτής ψυχρής συγκολλητίνης
MAC	Membrane attack complex	Σύμπλεγμα επίθεσης μεμβράνης
NK	Natural killers	Φυσικοί φονείς
Th	T help	Βοηθητικά T
Th17	T help 17	Βοηθητικά T 17
Th2	T help 2	Βοηθητικά T 2
IL-17	Interleukin 17	Ιντερλευκίνη 17
IL-13	Interleukin 13	Ιντερλευκίνη 13

IL-10	Interleukin 10	Ιντερλευκίνη 10
IL-6	Interleukin 6	Ιντερλευκίνη 6
IL-4	Interleukin 4	Ιντερλευκίνη 4
TGF-β	Transforming growth factor beta	Αυξητικό παράγοντα β
IFN-γ	Interferon γ	Ιντερφερόνη γ
IVIG	Intravenous immunoglobulins	Ενδοφλέβιες ανοσοσφαιρίνες

Πρόλογος

Η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (ΑΙΗΑ) είναι ένας τύπος αιμολυτικής αναιμίας που εμφανίζεται λόγω του ανοσοποιητικού συστήματος του οργανισμού που επιτίθεται και καταστρέφει τα δικά του ερυθρά αιμοσφαίρια (1). Δηλαδή την παραγωγή αυτοαντισωμάτων που στοχεύουν τα αντιγόνα στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων οδηγώντας τα σε καταστροφή, μειωμένη διάρκεια ζωής και επακόλουθη αναιμία (2,3).

Ως αυτοάνοσο νόσημα θεωρείται μια κατάσταση που προκύπτει από την ανώμαλη ανοσοαπόκριση ενάντια σε οποιονδήποτε ιστό ή όργανο του ίδιου του οργανισμού. Σε ένα υγιή άτομο το ανοσοποιητικό σύστημα λειτουργεί ως μέσο προστασίας του οργανισμού από την εισβολή ιών, βακτηρίων και άλλων παθογόνων μικροοργανισμών. Το ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να αναγνωρίσει και να διακρίνει μεταξύ «εαυτού» και «μη-εαυτού» αντιγόνων, τα οποία είναι μόρια που πυροδοτούν μια ανοσολογική απόκριση. Ωστόσο, σε άτομα με αυτοάνοσα νοσήματα, το ανοσοποιητικό σύστημα αποτυγχάνει να διακρίνει μεταξύ των αντιγόνων του εαυτού και του μη εαυτού και επιτίθεται στους ιστούς και τα όργανα του ίδιου του οργανισμού (4).

Η παραγωγή των ερυθροκυττάρων (RBCs) επιτυγχάνεται μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται ερυθροποίηση και πραγματοποιείται στον μυελό των οστών. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια έχουν καθοριστικό ρόλο στην μεταφορά οξυγόνου στο αίμα. Η διαδικασία της ερυθροποίησης περιλαμβάνει πολλά στάδια μέχρι την τελική μορφή του ώριμου ερυθροκύτταρου (5,6). Η απορρύθμιση της ερυθροποίησης μπορεί να οδηγήσει σε διάφορες διαταραχές. Μία από αυτές είναι η ανεπαρκής παραγωγή ερυθροκυττάρων, δηλαδή η αναιμία. Η ΑΙΗΑ μπορεί να οδηγήσει σε αναιμία, αιμόλυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων και διάφορες επιπλοκές, συμπεριλαμβανομένης της αναπνευστικής ανεπάρκειας. Η καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων στην αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία επιτυγχάνεται με διάφορους μηχανισμούς όπως η λύση του συμπληρώματος, η φαγοκυττάρωση και η απόπτωση (2,3).

Η παθογένεση της ΑΙΗΑ είναι πολύπλοκη και δεν είναι πλήρως κατανοητή. Ωστόσο, πιστεύεται ότι είναι το αποτέλεσμα ενός συνδυασμού γενετικών, περιβαλλοντικών και ανοσολογικών παραγόντων (7). Η ταξινόμηση της ΑΙΗΑ εξαρτάται από την θερμοκρασία δράσης των αυτοαντισωμάτων σε θερμή και ψυχρή. Η κλινική εικόνα της ΑΙΗΑ μπορεί να ποικίλλει ευρέως, από ήπια αναιμία έως απειλητική για τη ζωή αιμόλυση, ανάλογα με τη

σοβαρότητα της νόσου και την παρουσία υποκείμενων συννοσηροτήτων. Η διάγνωση της νόσου απαιτεί κλινική αξιολόγηση, εργαστηριακές εξετάσεις, επίχρισμα περιφερικού αίματος, εξέταση αντισφαιρίνης (DAT) και εξέταση αυτοαντισωμάτων. Απεικονιστικές μελέτες, εξέταση μυελού των οστών και άλλες εξειδικευμένες εξετάσεις μπορεί να είναι απαραίτητες σε συγκεκριμένες περιπτώσεις. Οι θεραπευτικές επιλογές για την ΑΙΗΑ μπορεί περιλαμβάνουν κορτικοστεροειδή, ανοσοκατασταλτικά φάρμακα, σπληνεκτομή ή ακόμα και μετάγγιση αίματος (1,8).

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η βιβλιογραφική ανασκόπηση της αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας, η ανάλυση των συμπτωμάτων, η διάγνωσης της ασθένειας και η ανάλυση των θεραπευτικών προσεγγίσεων.

1. Εισαγωγή

1.1. Αναιμία

Η αναιμία είναι μια κατάσταση που χαρακτηρίζεται από μείωση του αριθμού των ερυθρών αιμοσφαιρίων ή μείωση της ποσότητας αιμοσφαιρίνης που υπάρχει στο αίμα. Μπορεί να προκληθεί από διάφορους παράγοντες, όπως διατροφικές ελλείψεις, χρόνιες ασθένειες ή και γενετικές διαταραχές. Μπορεί επίσης να προκληθεί από αυτοάνοσες διαταραχές, όπως η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, η οποία χαρακτηρίζεται από την καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων από το ανοσοποιητικό σύστημα του ίδιου του οργανισμού. (3,9).

Η αναιμία είναι μια κατάσταση που επηρεάζει εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως και οι συνέπειές της μπορεί να είναι σοβαρές, ιδιαίτερα σε ευάλωτους πληθυσμούς όπως οι έγκυες γυναίκες και τα παιδιά. Οι συνέπειές της μπορεί εκτός από σοβαρές να είναι και μακροχρόνιες. Για παράδειγμα στις έγκυες γυναίκες, μπορεί να οδηγήσει σε χαμηλό βάρος γέννησης, πρόωρο τοκετό και μητρική θνησιμότητα. Στα παιδιά, μπορεί να βλάψει τη γνωστική ανάπτυξη και να αυξήσει τον κίνδυνο λοιμώξεων. Στους ενήλικες μπορεί να μειώσει την παραγωγικότητα και την ποιότητα ζωής και να αυξήσει τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου. Η έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπιση της αναιμίας είναι απαραίτητες για τη βελτίωση των αποτελεσμάτων. Οι επαγγελματίες υγείας μπορούν να διαγνώσουν την αναιμία μέσω μιας εξέτασης αίματος για τη μέτρηση των επιπέδων αιμοσφαιρίνης. Ο προσυμπτωματικός έλεγχος είναι ιδιαίτερα σημαντικός σε ευάλωτους πληθυσμούς, όπως οι έγκυες γυναίκες και τα παιδιά, και σε περιοχές όπου η νόσος είναι διαδεδομένη. Απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την ανάπτυξη νέων και αποτελεσματικών θεραπειών για την αναιμία και για τη βελτίωση της πρόσβασης σε υγειονομική περίθαλψη και διατροφή για όσους κινδυνεύουν περισσότερο. Οι προσπάθειες για την πρόληψή της μέσω της βελτιωμένης διατροφής, της πρόσβασης σε καθαρό νερό και της πρόληψης μολυσματικών ασθενειών μπορούν επίσης να συμβάλουν στη μείωση της έντασης των συμπτωμάτων της αναιμίας παγκοσμίως (10).

Ενώ η σιδηροπενική αναιμία είναι η πιο κοινή μορφή αναιμίας, άλλοι τύποι, όπως η αιμολυτική αναιμία, η απλαστική αναιμία και η δρεπανοκυτταρική αναιμία μπορεί επίσης να έχουν σοβαρές συνέπειες (2,9,11,12).

1.2. Αιμόλυση

Η αιμόλυση είναι η καταστροφή των ερυθροκυττάρων (RBCs) και η απελευθέρωση του περιεχομένου τους στην κυκλοφορία του αίματος. Η αιμόλυση μπορεί να συμβεί φυσικά μέσα στο σώμα ή ως αποτέλεσμα εξωτερικών παραγόντων όπως λοιμώξεις, τοξίνες και αντιδράσεις μετάγγισης. Μία από τις κύριες αιτίες είναι το οξειδωτικό στρες, το οποίο εμφανίζεται όταν υπάρχει ανισορροπία μεταξύ των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και των αντιοξειδωτικών στο σώμα. Αυτή η ανισορροπία μπορεί να οδηγήσει σε βλάβη στις μεμβράνες των ερυθρών αιμοσφαιρίων και σε άλλα κυτταρικά συστατικά, με αποτέλεσμα την αιμόλυση (13).

Επιπλέον, μπορεί να συμβεί αιμόλυση κατά την αποθήκευση προϊόντων αίματος σε τράπεζες αίματος, ως αποτέλεσμα της μηχανικής καταπόνησης που υφίστανται τα RBCs κατά την επεξεργασία και την αποθήκευση. Οι επιπλοκές που σχετίζονται με τη μετάγγιση είναι μια άλλη πιθανή συνέπεια της αιμόλυσης. Η σχετιζόμενη με τη μετάγγιση οξεία πνευμονική βλάβη (TRALI) είναι μια σπάνια αλλά δυνητικά θανατηφόρα επιπλοκή που μπορεί να συμβεί μετά από μετάγγιση αίματος και έχει συσχετιστεί με την παρουσία αντισωμάτων που προέρχονται από δότη που αντιδρούν με τα λευκοκύτταρα του λήπτη και προκαλούν βλάβη στους πνεύμονες (14,15).

1.3. Αυτοάνοσο Νόσημα

Στις αυτοάνοσες ασθένειες, το ανοσοποιητικό σύστημα, το οποίο έχει σχεδιαστεί για να προστατεύει τον οργανισμό από ξένους εισβολείς όπως βακτήρια και ιούς, απορυθμίζεται και αρχίζει να αναγνωρίζει τους ιστούς του εαυτού τους ως ξένους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή αυτοαντισωμάτων και την ενεργοποίηση των κυττάρων του ανοσοποιητικού που επιτίθενται και βλάπτουν τους υγιείς ιστούς. Διάφοροι παράγοντες συμβάλλουν στην ανάπτυξη αυτοάνοσων νοσημάτων, συμπεριλαμβανομένης της γενετικής προδιάθεσης, των περιβαλλοντικών παραγόντων και της απορρύθμισης της ανοσολογικής απόκρισης. Η απορρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος που παρατηρείται στα αυτοάνοσα νοσήματα περιλαμβάνει διάφορα συστατικά, συμπεριλαμβανομένων των T κυττάρων, των B κυττάρων και των αυτοαντισωμάτων. Για παράδειγμα τα αυτοαντισώματα που παράγονται από τα B κύτταρα στοχεύουν τα αυτοαντιγόνα, τα οποία είναι πρωτεΐνες ή άλλα μόρια που παράγονται από τα ίδια τα κύτταρα του σώματος. Αυτά τα αυτοαντισώματα μπορούν

να προκαλέσουν βλάβη και δυσλειτουργία των ιστών, οδηγώντας σε μια σειρά κλινικών εκδηλώσεων.

Όπως στον συστηματικό ερυθματώδη λύκο (ΣΕΛ), τα αυτοαντισώματα στοχεύουν μια ποικιλία αυτο-αντιγόνων, οδηγώντας σε φλεγμονή και βλάβη σε πολλαπλά όργανα (16). Η μη φυσιολογική ενεργοποίηση των Τ κυττάρων, τα οποία διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην ανορχήστρωση των ανοσολογικών αποκρίσεων, είναι ένα κοινό χαρακτηριστικό σε διαφορετικές αυτοάνοσες καταστάσεις (4,17).

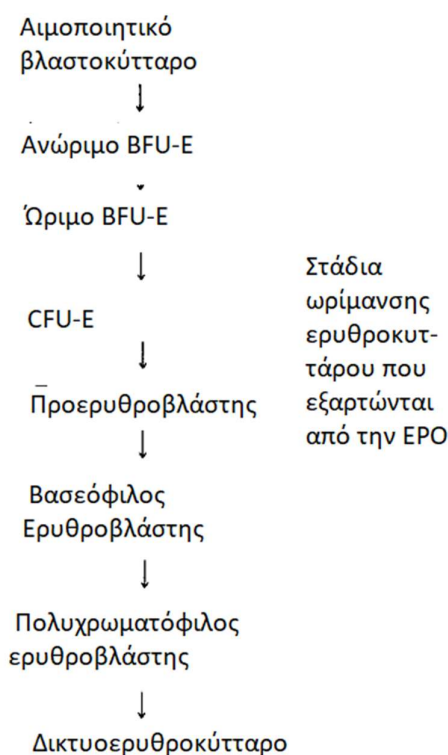
Η κατανόηση της πολύπλοκης φύσης των αυτοάνοσων νοσημάτων είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη αποτελεσματικών διαγνωστικών εργαλείων, θεραπειών και προληπτικών μεθόδων. Οι ερευνητικές προσπάθειες έχουν αφιερωθεί στην ανακάλυψη των υποκείμενων μηχανισμών και στον εντοπισμό νέων θεραπευτικών μεθόδων. Για παράδειγμα, οι εξελίξεις στις γονιδιωματικές μελέτες έχουν οδηγήσει στον εντοπισμό συγκεκριμένων γενετικών παραλλαγών που σχετίζονται με αυτοάνοσα νοσήματα, ρίχνοντας φως σε πιθανούς γενετικούς παράγοντες κινδύνου. Επιπλέον, μελέτες που επικεντρώνονται στο μικροβίωμα του εντέρου έχουν δείξει την επιρροή του στην ανοσολογική ρύθμιση και την ανάπτυξη αυτοάνοσων νοσημάτων, υποδηλώνοντας τη δυνατότητα για παρεμβάσεις που βασίζονται στο μικροβίωμα. Τέλος, περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως η έκθεση στον καπνό του τσιγάρου, ορισμένες χημικές ουσίες και το στρες, έχουν επίσης συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο αυτοάνοσων νοσημάτων (18–20).

1.4. Το ερυθροκύτταρο

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια, γνωστά και ως ερυθροκύτταρα, είναι απαραίτητα για το κυκλοφορικό σύστημα. Βασικό τους χαρακτηριστικό είναι το μοναδικό αμφίκυρτο σχήμα. Χαρακτηρίζονται ακόμα από στέρωση πυρήνα καθώς και άλλων οργανιδίων (21,22). Τα ερυθρά αιμοσφαίρια έχουν καθοριστικό ρόλο στην ανταλλαγή αερίων στο αίμα. Δηλαδή μεταφέρουν οξυγόνο από τους πνεύμονες στους ιστούς του σώματος και διοξείδιο του άνθρακα από τους ιστούς πίσω στους πνεύμονες. Η ανταλλαγή αυτή των αερίων διευκολύνεται από την πρωτεΐνη που περιέχει σίδηρο που ονομάζεται αιμοσφαιρίνη, η οποία συνδέεται με το οξυγόνο στους πνεύμονες και το απελευθερώνει στους ιστούς. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια διαδραματίζουν επίσης κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση της οξεοβασικής ισορροπίας του αίματος ρυθμίζοντας τα επίπεδα διοξειδίου του άνθρακα και διττανθρακικών ιόντων. Εκτός

από την τη λειτουργία της μεταφοράς αερίων, τα ερυθρά αιμοσφαίρια συμβάλλουν επίσης στους αμυντικούς μηχανισμούς του ανοσοποιητικού συστήματος αλληλοεπιδρώντας με διάφορα κύτταρα του ανοσοποιητικού και εκκρίνοντας κυτοκίνες και χημειοκίνες (23).

Η παραγωγή των ερυθροκυττάρων επιτυγχάνεται μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται ερυθροποίηση και πραγματοποιείται στον μυελό των οστών. Η διαδικασία της ερυθροποίησης περιλαμβάνει πολλά στάδια μέχρι την τελική μορφή του ώριμου ερυθροκύτταρου (5,6).



Εικόνα 1: Στάδια πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης των ερυθροκυττάρων. Η παραγωγή και η διαφοροποίηση των ερυθροκυττάρων που εξαρτώνται από την EPO. Κάθε στάδιο περιέχει περισσότερα κύτταρα από τι το προηγούμενο. Το πρώτο αιμοποιητικό βλαστοκύτταρο ωριμάζει σε ερυθροβλάστη και στη συνέχεια γίνεται δικτυοερυθροκύτταρο. Το τελευταίο στάδιο πριν το ερυθροκύτταρο (5).

Η παραγωγή και η ρύθμιση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ελέγχονται αυστηρά από μια ορμόνη την ερυθροποιητίνη (EPO)(εικόνα 1), που παράγεται κυρίως από τα νεφρά, η οποία διεγείρει τον μυελό των οστών να αυξήσει την παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων ως απόκριση στα χαμηλά επίπεδα οξυγόνου στο αίμα. Η διαδικασία της ερυθροποίησης περιλαμβάνει τη διαφοροποίηση και την ωρίμανση των πρόδρομων κυττάρων σε ώριμα ερυθρά αιμοσφαίρια. Ο σίδηρος, η βιταμίνη B12 και το φολικό οξύ είναι απαραίτητα θρεπτικά

συστατικά που απαιτούνται για την παραγωγή και τη σωστή λειτουργία των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Διαταραχές σε οποιονδήποτε από αυτούς τους ρυθμιστικούς μηχανισμούς μπορεί να οδηγήσουν σε καταστάσεις όπως η αναιμία, όπου το σώμα δεν διαθέτει επαρκή αριθμό υγιών ερυθρών αιμοσφαιρίων (24).

1.5. Το σύστημα του συμπληρώματος

Το συμπλήρωμα αποτελεί βασικό κομμάτι της φυσικής ανοσίας του οργανισμού. Πρόκειται για πρώτη γραμμή άμυνας ενάντια σε οποιονδήποτε ξενιστή (25). Διάφορες πρωτεΐνες πλάσματος που παράγονται κυρίως από το ήπαρ ή τις πρωτεΐνες της μεμβράνης που εκφράζονται στην κυτταρική επιφάνεια συντελούν το σύστημα του συμπληρώματος. Το συμπλήρωμα λειτουργεί στο πλάσμα, στους ιστούς ή ενδοκυττάρια (26).

Το σύστημα συμπληρώματος εκκινείται ανάλογα με την περίπτωση από τρεις διακριτές οδούς. Την κλασική (CP), την λεκτίνη (LP) και την εναλλακτική (AP). Καθεμία από τις οποίες οδηγεί σε μια κοινή τερματική οδό. Η τερματική οδός είναι το σύμπλεγμα επίθεσης μεμβράνης (MAC). Οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος συνεργάζονται με σκοπό να επάγουν μια σειρά από φλεγμονώδεις αποκρίσεις προκειμένου τα κύτταρα του ανοσοποιητικού να καταπολεμήσουν τη μόλυνση και την διατήρηση της ομοιόστασης. Σε ένα υγιές άτομο, η AP είναι μόνιμα ενεργή σε χαμηλά επίπεδα με σκοπό να διερευνά την παρουσία κάθε τι παθολόγου στον οργανισμό. Η πλήρης ενεργοποίηση του συμπληρώματος πραγματοποιείται μόνο σε περίπτωση μόλυνσης. Οι τρεις οδοί ενεργοποιούνται στην επιφάνεια των αποπτωτικών κυττάρων. Τα αποπτωτικά κύτταρα δημιουργούνται συνεχώς μέσα στον οργανισμό καθόλη την διάρκεια της φυσιολογικής κυτταρικής ομοιόστασης. Το συμπλήρωμα σε περίπτωση ύπαρξης φλεγμονής σκοπό έχει την φαγοκυττάρωση και την καταστροφή του παθολόγου. Ωστόσο η υπερβολική διέγερση του συμπληρώματος μπορεί να οδηγήσει σε αρνητικές επιπτώσεις για τον οργανισμό. Μπορεί να προκαλέσει υψηλή ευαισθησία σε λοιμώξεις, αυτοάνοσα νοσήματα ή και καρκίνο (27).

1.6. Ο ρόλος των αυτοαντισωμάτων στην αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία

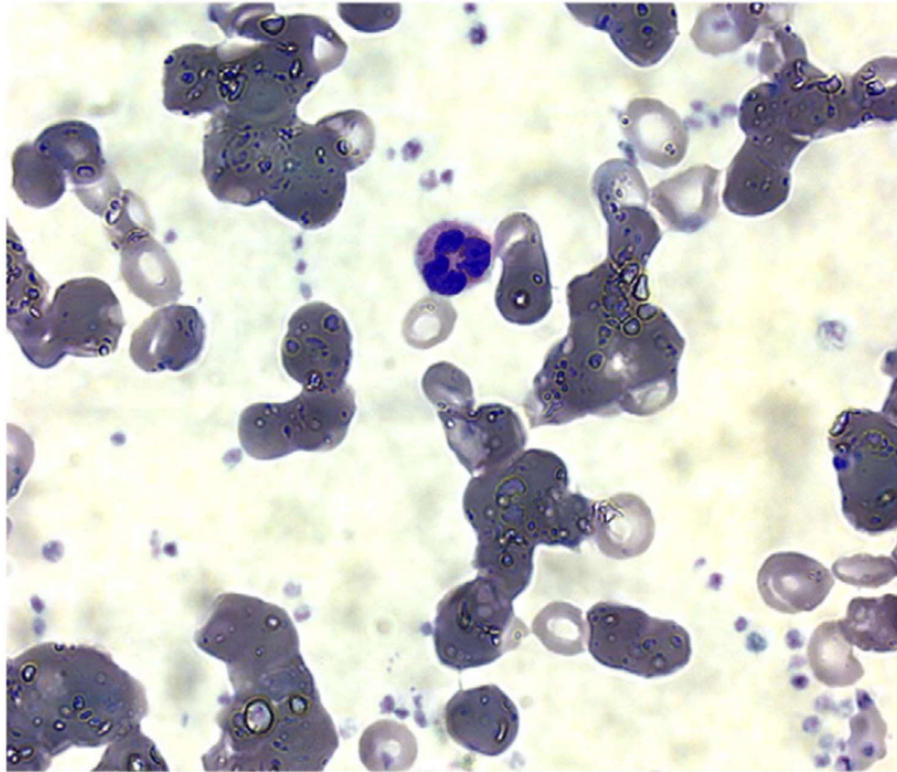
Η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (ΑΙΗΑ) είναι μια σπάνια αλλά δυνητικά σοβαρή κατάσταση που χαρακτηρίζεται από την καταστροφή των RBCs από αυτοαντισώματα, οδηγώντας σε αναιμία. Τα αυτοαντισώματα είναι αντισώματα που εσφαλμένα στοχεύουν και επιτίθενται

στα ίδια τα κύτταρα ή τους ιστούς του σώματος, συμπεριλαμβανομένων των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Ο ρόλος των αυτοαντισωμάτων στην παθογένεση της AIHA έχει μελετηθεί για την συμβολή τους στη διαδικασία της νόσου (2,3). Τα αυτοαντισώματα στην AIHA μπορούν να παραχθούν αυθόρμητα ή μπορεί να προκύψουν ως αποτέλεσμα μιας υποκείμενης πάθησης, όπως αυτοάνοσες ασθένειες, λεμφοπολλαπλασιαστικές διαταραχές ή αντιδράσεις που προκαλούνται από φάρμακα. Σε πολλές περιπτώσεις, η ακριβής ενεργοποίηση για την παραγωγή αυτοαντισωμάτων στην AIHA παραμένει ασαφής και απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την καλύτερη κατανόηση των υποκείμενων μηχανισμών (28).

1.6.1. Η ταξινόμηση των αυτοαντισωμάτων

Η ταξινόμηση των αυτοαντισωμάτων μπορεί να γίνει σε δύο βασικούς τύπους με βάση τη βέλτιστη θερμοκρασία στην οποία τα αυτοαντισώματα αντιδρούν με τα ερυθρά αιμοσφαίρια: σε θερμά και ψυχρά. Τα θερμά είναι ο πιο κοινός τύπος, όπου τα αυτοαντισώματα αντιδρούν με τα ερυθρά αιμοσφαίρια σε θερμοκρασία σώματος (37°C). Πρόκειται για IgG αντίσωμα το οποίο μπορεί να συνδεθεί με τα αντιγόνα των RBCs και να ενεργοποιήσει το σύστημα του συμπληρώματος, οδηγώντας σε επιταχυνόμενη καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Τα θερμά μπορούν να στραφούν εναντίον διαφόρων αντιγόνων των ερυθροκυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των rh, kell, duffy, kidd και άλλων συστημάτων ομάδων αίματος. Τα θερμά αυτοαντισώματα IgG μπορούν να μεσολαβήσουν στην καταστροφή των RBCs μέσω οψωνοποίησης, ενεργοποίησης συμπληρώματος και φαγοκυττάρωσης από μακροφάγα και σπληνικά κύτταρα. Αντίθετα, τα ψυχρά είναι λιγότερο συχνά και εμφανίζονται όταν τα αυτοαντισώματα συγκολλούνται, και προκαλούν καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, συνήθως κάτω από τη θερμοκρασία του σώματος (1,7,29,30). Το σύστημα συμπληρώματος παίζει ρόλο τόσο στην θερμή όσο και στην ψυχρή AIHA. Στην θερμή τα IgG που συνδέονται με τα RBCs είναι σε θέση να σταθεροποιήσουν το πρωτεϊνικό σύμπλεγμα C1 του συμπληρώματος και έτσι να ενεργοποιηθεί η κλασική οδός του συμπληρώματος. Τα θερμά IgG αποτελούνται από 4 υποκατηγορίες (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). Η υποκατηγορία IgG3 είναι η πιο αποτελεσματική από όλες. Στην συνέχεια ακολουθεί η IgG1, ενώ η IgG2 και η IgG4 είναι λιγότερο (31–33). Τα αυτοαντισώματα που εμπλέκονται στο σύνδρομο ψυχρής συγκολλητίνης (CAS), συγκολλούν τα ερυθροκύτταρα σε μια βέλτιστη θερμοκρασία 0-4 °C (34). Πρόκειται κυρίως για IgM αντισώματα που δεσμεύουν τα ερυθρά αιμοσφαίρια σε χαμηλές θερμοκρασίες και

οδηγούν σε συγκόλληση και επακόλουθη αιμόλυση (35). Η ψύξη του αίματος κατά την κυκλοφορία επιτρέπει στις ψυχρές συγκολλητίνες (CA) να συνδεθούν με τα RBCs και να προκαλέσουν συγκόλληση (Εικόνα 2). Η δεσμευμένη σε αντιγόνο από IgM-CA είναι πιο επιρρεπής από την IgG στη δέσμευση της πρωτεΐνης C1 του συμπληρώματος (36–39).



Εικόνα 2: Επίχρισμα περιφερικού αίματος από ασθενή με πρωτοπαθή CA. Παρατηρείται συγκόλληση των RBCs που προκαλείται από τις ψυχρές συγκολλητίνες με βέλτιστη θερμοκρασία δράσης τους 0–4 °C. (35)

Λόγω της πενταμερής δομής τους, έχουν την ικανότητα να σταθεροποιούν δραματικά το συμπλήρωμα σε σύγκριση με άλλους ισότυπους, προκαλώντας έτσι κατά κύριο λόγο ενδοαγγειακή αιμόλυση και σε μικρότερο βαθμό εξωαγγειακή λύση (40). Το θερμικό εύρος των αυτοαντισωμάτων IgM είναι από 0 έως 34 °C. Τα πιο επιβλαβή είναι εκείνα με θερμοκρασία κοντά στην φυσιολογική και είναι ικανά να προκαλέσουν σοβαρή ΑΙΗΑ με το ποσοστό θνησιμότητας να φτάνει το 20% (41). Ο ρόλος του συστήματος συμπληρώματος στην ψυχρή ΑΙΗΑ είναι εξίσου σημαντικός, και εξαρτάται από το θερμικό πλάτος του αυτοαντισώματος IgM. Το ψυχρό αυτοαντίσωμα IgM δεσμεύει το C1 και έτσι ξεκινά την κλασική οδό συμπληρώματος (39). Το σύμπλεγμα C1 ενεργοποιεί τα C4 και C2. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργείται το σύμπλεγμα C3 κονβερτάση (C4b και C2b), το οποίο έχει ως αποτέλε-

σμα τη διάσπαση του C3 σε C3a και C3b. Τα RBCs επιστρέφουν στα κεντρικά μέρη του σώματος με θερμοκρασία 37°C. Τότε το αυτοαντίσωμα IgM αποσπάται από την κυτταρική επιφάνεια, ενώ το C3b παραμένει δεσμευμένο. Ένα μέρος των επικαλυμμένων με C3b RBCs απομονώνεται στο ήπαρ, ενώ τα άλλα RBCs λύνονται μέσω της ενεργοποίησης του C5 συμπληρώματος από το C3b. Ο τελικός σχηματισμός του MAC καθορίζει την ενδοαγγειακή αιμόλυση (42,43).

Ένας άλλος τύπος ψυχρών αυτοαντισωμάτων είναι του μικτού τύπου, γνωστά και ως νόσος μεικτής ψυχρής συγκολλητίνης (MCAD). Χαρακτηρίζονται από την ικανότητά τους να αντιδρούν τόσο σε ψυχρές όσο και σε θερμές θερμοκρασίες. Αυτά τα αυτοαντισώματα μπορούν να προκαλέσουν αιμόλυση στην περιφερική κυκλοφορία σε χαμηλότερες θερμοκρασίες και ενδοαγγειακή αιμόλυση σε υψηλότερες θερμοκρασίες (44).

2. Η παθογένεση της ΑΙΗΑ

2.1 Γενικά χαρακτηριστικά παθογένεσης της ΑΙΗΑ

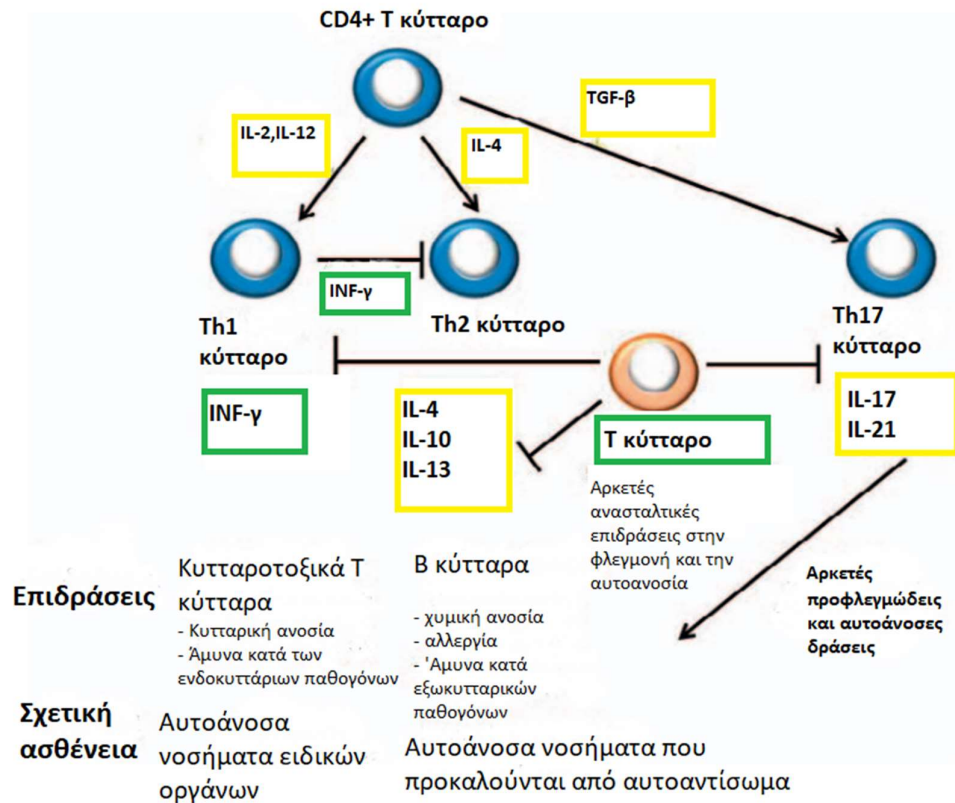
Η παθογένεση της ΑΙΗΑ είναι πολύπλοκη και δεν είναι πλήρως κατανοητή. Ωστόσο, πιστεύεται ότι είναι το αποτέλεσμα ενός συνδυασμού γενετικών, περιβαλλοντικών και ανοσολογικών παραγόντων (7). Βασικό κεντρικό γεγονός στην ανάπτυξη της θεωρείται η ανοσολογική απορρύθμιση. Οι κεντρικοί μηχανισμοί ανοχής, οι οποίοι εξαλείφουν τα αυτοαντιδραστικά λεμφοκύτταρα κατά την ωρίμανσή τους στον θύμο αδένα, μπορεί να επηρεαστούν, οδηγώντας στη διαφυγή αυτοαντιδραστικών Β και Τ κυττάρων (1,29). Κύριος παράγοντας για την αυτοανοσία κατά των ερυθροκυττάρων είναι το σύστημα του συμπληρώματος. Είναι υπεύθυνο για την οσμωτική λύση του ερυθροκυττάρου μέσω της διαδοχικής ενεργοποίησης του συμπλέγματος επίθεσης μεμβράνης (MAC). Ακόμα τα αυτοαντισώματα είναι ικανά να καταστρέψουν τα ερυθρά αιμοσφαίρια από κυτταροτοξικότητα εξαρτώμενη από αντισώματα (σύστημα ADCC) η οποία διαμεσολαβείται από κυτταροτοξικά CD8+ Τ κύτταρα και κύτταρα φυσικούς φονείς (NK). Τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK) φέρουν υποδοχείς μεμβράνης για το τμήμα Fc της ανοσοσφαιρίνης G (IgG) (7,40). Επιπλέον, ελαττώματα στους περιφερειακούς μηχανισμούς ανοχής, που διατηρούν την ανοσολογική ανοχή στα αυτοαντιγόνα, μπορούν να συμβάλουν στην παραγωγή αυτοαντισωμάτων κατά των ερυθρών αιμοσφαιρίων (45).

2.2. Τα Β λεμφοκύτταρα στην παθογένεση της ΑΙΗΑ

Τα Β κύτταρα παίζουν καθοριστικό ρόλο στην παθογένεση της νόσου καθώς είναι υπεύθυνα για την παραγωγή αυτοαντισωμάτων. Απορρύθμιση των οδών ενεργοποίησης και διαφοροποίησης των Β κυττάρων έχει παρατηρηθεί στην ΑΙΗΑ. Επίσης ανωμαλίες στη σηματοδότηση των υποδοχέων των Β κυττάρων, στα συν-διεγερτικά μόρια και στις αλληλεπιδράσεις που προκαλούνται από κυτοκίνη μπορεί να οδηγήσουν στην επέκταση και ενεργοποίηση αυτοαντιδραστικών Β κυττάρων, με αποτέλεσμα την παραγωγή αυτοαντισωμάτων που στοχεύουν τα ερυθρά αιμοσφαίρια (46). Σε ασθενείς με ΑΙΗΑ εμφανίζονται αυτοαντισώματα στα Β λεμφοκύτταρα και έκφραση CD5 από ένα υποσύνολο Β λεμφοκυττάρων. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα CD5+ Β λεμφοκύτταρα σχετίζονται με κυτταροπενία (47–49).

2.3. Τα Τ λεμφοκύτταρα στην παθογένεση της ΑΙΗΑ

Η ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος με την μεσολάβηση των Τ κυττάρων έχει αποδειχθεί ότι έχει σημαντικό ρόλο στην απώλεια της αυτοανοχής στην ΑΙΗΑ. Έχει μελετηθεί τελευταία πως υπάρχει αυξημένη πολλαπλασιαστική απόκριση των Τ κυττάρων και κυτταροτοξικότητα των ΝΚs έναντι των RBCs. Επιπλέον μια κατηγορία βοηθητικών Τ κυττάρων (Th) είναι τα Th17 που χαρακτηρίζονται από έκκριση ιντερλευκίνης (IL-17), έχουν αναγνωρισθεί ως υπεύθυνα για εμφάνιση πολλών αυτοάνοσων νοσημάτων μεταξύ αυτών και της ΑΙΗΑ (50–52). Τα Τ λεμφοκύτταρα παράγουν IL-10 και τον αυξητικό παράγοντα β (TGF-β). Η ανισορροπία μεταξύ IL-10 και IL-12 μπορεί να προκαλέσει την έναρξη της ΑΙΗΑ ή και την διατήρησή της. Αρκετές ακόμα ανωμαλίες των ανοσορυθμιστικών κυτοκινών έχουν αναφερθεί στην ΑΙΗΑ. Σύμφωνα με ερευνητικά πειράματα βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα IL-1α, IL-2/IL-2R, IL-6 και IL-21 στον ορό. Αυξημένα ήταν επίσης τα Th1 που εκκρίνουν IL-2 και IL-12, ενώ η IFN-γ βρέθηκε μειωμένη. Τέλος, τα Th2 που εκκρίνουν IL-4 και IL-13 αναφέρθηκαν αυξημένες, μαζί με αυξημένη παραγωγή IL-6, IL-10 και IL-17 (52–54). Οι ασθενείς με ενεργή αιμόλυση εμφάνισαν περαιτέρω μείωση της IFN-γ και αυξημένη έκκριση του TGF-β. Επιπλέον, η προσθήκη IL-4, IL-6, IL-10, IL-13 και TGF-β αύξησε την έκκριση αυτοαντισωμάτων σύμφωνα με την έρευνα που εκτυλίχθηκε (52). Τα αυξημένα επίπεδα του TGF-β ευνοούν τη διαφοροποίηση μιας υποομάδας Th17, η οποία είναι υπεύθυνη για προφλεγμονώδη και αυτοάνοση απόκριση. Αντίθετα, τα μειωμένα επίπεδα τόσο της IFN-γ όσο και των Τ λεμφοκυττάρων οδηγούν σε μειωμένη αναστολή της απόκρισης Th2, δηλαδή σε ενίσχυση της αυτοάνοσης νόσου που προκαλείται από αυτοαντίσωμα (55)(Εικόνα 3).



Εικόνα 3: Υποσύνολο T-λεμφοκυττάρων και αλληλεπιδράσεις κυτταροκινών στην ΑΙΗΑ. Με κίτρινο χρώμα επισημαίνονται: IL-2 και IL-12, που επάγουν τη διαφοροποίηση των CD4+ προγενέστερων T κυττάρων σε Th1 υποσύνολο και IL-4, που προάγει τη μεταγωγή Th2. Τα αυξημένα επίπεδα του TGF-β ευνοούν τη διαφοροποίηση της υποομάδας Th17, η οποία ενισχύει την προ φλεγμονώδη και την αυτοάνοση απόκριση. Αντίθετα, βρέθηκαν μειωμένα επίπεδα τόσο της IFN-γ όσο και των T κυττάρων (τονισμένα με πράσινο χρώμα). Το πρώτο είχε ως αποτέλεσμα μειωμένη αναστολή της απόκρισης Th2, δηλαδή ενίσχυση της αυτοάνοσης νόσου που διαμεσολαβείται από αυτοαντισώματα και το δεύτερο μπορεί να προκαλέσει έλλειψη ρύθμισης προς τα κάτω των φλεγμονωδών και αυτοάνοσων οδών.

2.4. Ασθένειες στην παθογένεση της ΑΙΗΑ

Η ΑΙΗΑ μπορεί να συσχετιστεί με υποκείμενα αυτοάνοσα νοσήματα, λοιμώξεις, φάρμακα και κακοήθειες. Αυτοάνοσες ασθένειες όπως ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (ΣΕΛ), η ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ) και το πρωτοπαθές σύνδρομο Sjögren έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΑΙΗΑ. Η ανοσολογική απορρύθμιση και η παραγωγή αυτοαντισωμάτων που παρατηρείται σε αυτές τις αυτοάνοσες ασθένειες μπορεί να επεκταθεί στα ερυθρά αιμοσφαίρια, οδηγώντας στην καταστροφή τους (1). Ο μοριακός μιμητισμός μεταξύ των αντιγόνων του κυττάρου και των ξένων αντιγόνων είναι υπεύθυνος για την επιτάχυνση της αυτοάνοσης. Ίσως πρόκειται για τον κυριότερο μηχανισμό στην ΑΙΗΑ όταν αυτή προέρχεται από διάφορες βακτηριακές, μυκοπλασματικές ή ιικές λοιμώξεις, πιθανώς

λόγω της παρουσίας κοινών αντιγονικών επιτόπων σε πρωτεΐνες ή υδατάνθρακες των ερυθροκυττάρων (56).

Στις κακοήθειες, ιδιαίτερα στις λεμφοπολλαπλασιαστικές διαταραχές όπως στη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία (ΧΛΛ), τα κακοήθη κύτταρα μπορούν να παράγουν αυτοαντισώματα που στοχεύουν τα ερυθρά αιμοσφαίρια, συμβάλλοντας στην αιμόλυση (30).

2.5. Φάρμακα στην παθογένεση της ΑΙΗΑ

Η ΑΙΗΑ που προκαλείται από φάρμακα είναι μια άλλη αναγνωρισμένη αιτία. Ορισμένα φάρμακα, όπως η πενικιλίνη, οι κεφαλοσπορίνες και τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα έχει αναφερθεί ότι επάγουν ΑΙΗΑ πυροδοτώντας μια ανοσοαπόκριση κατά των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Οι ακριβείς μηχανισμοί με τους οποίους αυτά τα φάρμακα επάγουν την παραγωγή αυτοαντισωμάτων δεν είναι πλήρως κατανοητοί, αλλά μπορεί να περιλαμβάνουν μονοπάτια που εξαρτώνται από το απτένιο ή με τη μεσολάβηση ανοσοσυμπλεγμάτων. Σύμφωνα με την εξέλιξη της έρευνας της επίδρασης των φαρμάκων, το 1967 είχαν ανακαλυφθεί 13 φάρμακα, το 1980 εμπλέκονταν 32 ενώ το 2007 125. Οι τρεις ομάδες των φαρμάκων είναι 42% αντιμικροβιακά, 15% ήταν αντιφλεγμονώδες και 11% αντινεοπλασματικά (57).

Φάρμακο*	Σαν Φρανσίσκο (Garratty and Petz) 1969–1978 (10 yrs)	Νότια Καλιφόρνια (Garratty, Arndt, and Leger)			
		1979–1988 (10 yrs)	1989–1998 (10 yrs)	1999–2008 (10 yrs)	1979–2008 (30 yrs)
Μεθυλοντόπα	29 (67%)	0	0	0	0 (0%)
Πενικιλίνη	10 (23%)	2 (15%)	0	0	2 (1.3%)
Κεφοτετάνη	0	0	36 (69%)	45 (53%)	81 (54%)
Κεφτριαξόνη	0	1 (8%)	5 (10%)	14 (17%)	20 (13%)
Άλλες κεφαλοσπορίνες	0	2 (15%)	0	0	2 (1.3%)
αναστολείς β-λακταμάσης	0	0	4 (8%)	6 (7%)	10 (7%)
Πιπερακιλλίνη	0	0	1 (2%)	12 (14%)	13 (9%)
Υπόλοιπα	4** (9.3%)	8† (62%)	6‡ (12%)	8§ (9%)	22 (15%)
ΣΥΝΟΛΟ	43	13	52	85	150
*Οι στήλες περιέχουν αριθμό (ποσοστό) περιπτώσεων που σχετίζονται με κάθε φάρμακο					
**Κινίνη (2), υδροχλωροθειαζίδη, ριφαμπίνη					
†Προβενεσίδη (2), χλωροπροπαμίδη, φαινακετίνη, ναφκιλλίνη, ριφαμπίνη, προκαϊναμίδη, ερυθρομυκίνη					
‡Φλουδαραβίνη (2), προβενεσίδη, τολεκτίνη, μεφλοκίνη, τικαρκιλίνη					
§Οξαλιπλατίνη (2), καρβοπλατίνη, ριφαμπίνη, δικλοφενάκη, σιμετιδίνη, τριμεθοπρίμη, σουλφαμεθοξαζόλη					

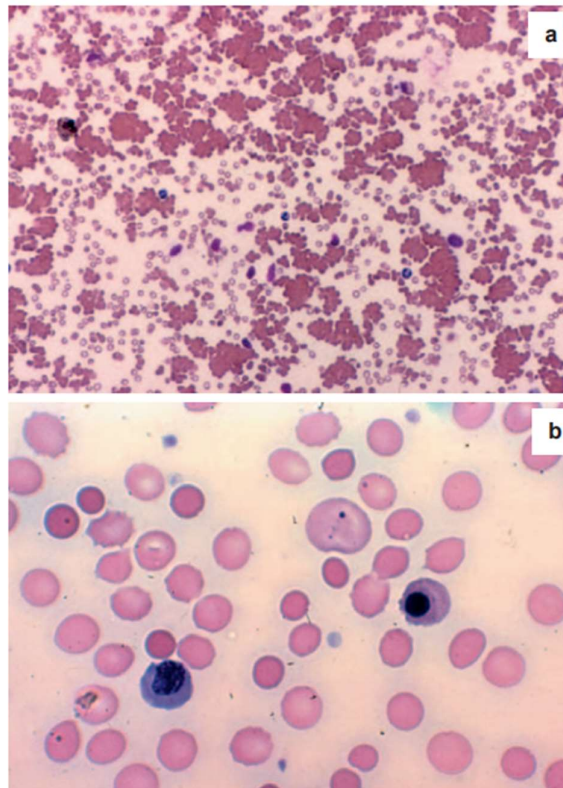
Πίνακας 1. Φάρμακα που προκαλούν ΑΙΗΑ που μελετήθηκαν για μια περίοδο 40 ετών. Στη δεκαετία του 1970 το πιο κοινό φάρμακο, ήταν η μεθυλντόπα, η οποία προκάλεσε ΑΙΗΑ χωρίς να εμπλέκεται αντίσωμα φαρμάκου και αντιπροσώπευε το 67% όλων των ΑΙΗΑ. Η υψηλής δόσης ενδοφλέβια πενικιλίνη αντιπροσώπευε το 25% της ΑΙΗΑ (57).

2.6. Περαιτέρω ταξινόμηση της ΑΙΗΑ

Η ΑΙΗΑ εκτός από τις κατηγορίες των αυτοαντισωμάτων ταξινομείται και σε πρωτοπαθής (ιδιοπαθής) και δευτεροπαθής. Πρωτοπαθής είναι η ΑΙΗΑ όπου η αιμόλυση κυριαρχεί στην κλινική εικόνα απουσίας οποιασδήποτε άλλης συνυπάρχουσας διαταραχής. Ενώ δευτερογενής εκείνη που συνοδεύεται από κάποιο υποκείμενο νόσημα. Η πλειοψηφία των θερμών μορφών είναι ιδιοπαθείς ή σχετίζονται με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα. Αντίθετα ψυχρές μορφές είναι κυρίως δευτεροπαθείς σε λοιμώξεις, ενώ τα χρόνια αυτοαντισώματα ψυχρής συγκολλητινής συνδέονται συχνά με λεμφοπλασματοκυτταρικές ή νεοπλασματικές ασθένειες (7,40).

3. Διάγνωση

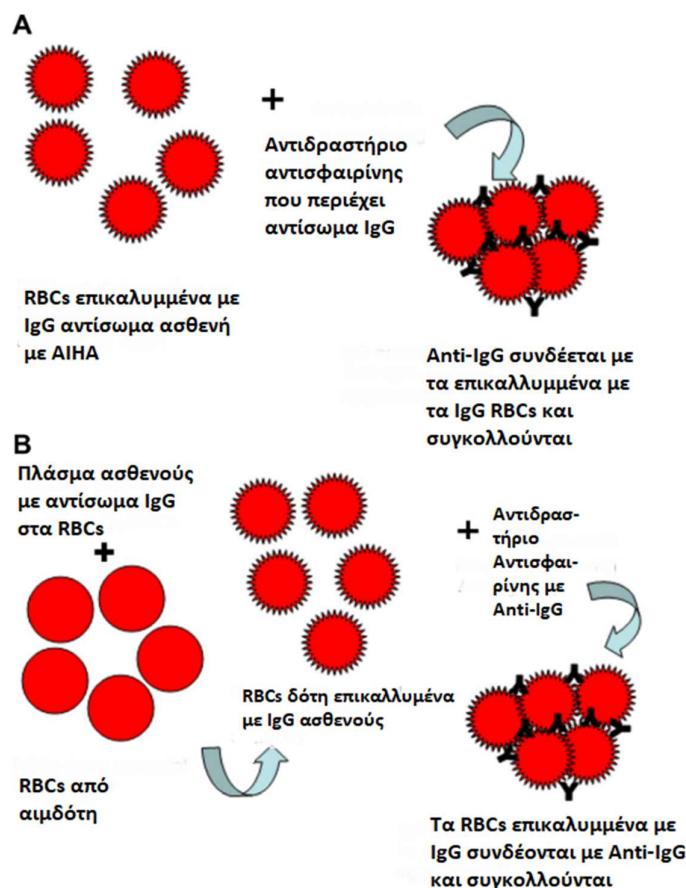
Για την διάγνωση της ΑΙΗΑ απαιτείται μια ολοκληρωμένη αξιολόγηση κλινικών χαρακτηριστικών, εργαστηριακών εξετάσεων και ειδικών διαγνωστικών κριτηρίων. Οι κλινικές εκδηλώσεις της ΑΙΗΑ μπορεί να ποικίλλουν ευρέως και κυμαίνονται από ήπια κόπωση και αναιμία έως σοβαρή αιμόλυση με οξείες παροξύνσεις. Τα κοινά συμπτώματα περιλαμβάνουν ίκτερο, ωχρότητα, σκούρα ούρα και σπληνομεγαλία. Για την αρχική αξιολόγηση χρειάζεται ένα λεπτομερές ιατρικό ιστορικό, η φυσική εικόνα του ασθενούς και μια πλήρης εξέταση αίματος (2).



Εικόνα 4: Αίμα από ασθενείς με ΑΙΗΑ. Χρησιμοποιείται με άδεια από τον Άτλαντα Αιματολογίας του Lichtman, www.accessmedicine.com A: νόσος ψυχρής συγκολλητίνης. Παρατηρείται συγκόλληση των RBCs. B: Θερμή ΑΙΗΑ. Παρατηρείται πολυχρωμασία. Μικρά, στρογγυλά RBCs χωρίς κεντρική ωχρότητα, μεγάλα μπλε-μωβ RBCs και εμπύρνα RBCs (58).

Μια εργαστηριακή εξέταση που χρησιμοποιείται στην διάγνωση της ΑΙΗΑ είναι η άμεση δοκιμή αντισφαιρίνης (DAT) (Εικ. 5, Πίνακας Α). Μια θετική DAT επιβεβαιώνει την παρουσία αυτοαντισωμάτων συνδεδεμένων με τα ερυθρά αιμοσφαίρια (1). Η (DAT), γνω-

στή και ως δοκιμή άμεσης Coombs, ανιχνεύει την παρουσία ανοσοσφαιρίνης ή και συμπληρώματος στα ερυθρά αιμοσφαίρια του ασθενούς. Περαιτέρω υποτυποποίηση μπορεί να επιτευχθεί με τη διενέργεια δοκιμής έκλουσης ή με τη χρήση μονοειδικών αντιορών (35,59). Στην DAT ένα αντιδραστήριο αντισφαιρίνης «ευρέως φάσματος» που περιέχει αντισώματα που στρέφονται κατά της ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης και πρωτεϊνών συμπληρώματος, χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο των ερυθρών αιμοσφαιρίων του ασθενούς. Εάν σημειωθεί συγκόλληση, χρησιμοποιούνται μονοειδικοί αντιοροί με αντισώματα έναντι των IgG και συμπληρώματος αντίστοιχα για να καθοριστεί το πρότυπο ευαισθητοποίησης των ερυθροκυττάρων. Ένα θετικό DAT υποδηλώνει ότι υπάρχουν πρωτεΐνες αυτοαντισώματος ή και συμπληρώματος στα κυκλοφορούντα ερυθροκύτταρα στον οργανισμό. Τρία είναι τα βασικά σενάρια στην ΑΙΗΑ: 1) RBCs επικαλυμμένα με IgG μόνο, 2) RBCs επικαλυμμένα με IgG συν συστατικά συμπληρώματος και 3) RBCs επικαλυμμένα με συστατικά συμπληρώματος μόνο (60–62). Μία επιπλέον εξέταση είναι η έμμεση δοκιμή αντισφαιρίνης (IAT), το οποίο βοηθά στον προσδιορισμό της συγκεκριμένης υποκατηγορίας ανοσοσφαιρίνης. Τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης στο αίμα είναι τυπικά μειωμένα και το επίχρισμα περιφερικού αίματος μπορεί να αποκαλύψει ενδείξεις αιμόλυσης (7). Το μη δεσμευμένο αυτοαντίσωμα μπορεί να ανιχνευθεί στο πλάσμα αυτών των ασθενών μέσω της έμμεσης δοκιμής αντισφαιρίνης (IAT) (Εικ. 5, Πίνακας Β). Στην IAT, ο ορός ή το πλάσμα του ασθενούς πρώτα επωάζεται με φυσιολογικά ερυθρά αιμοσφαίρια δότη. Αυτά τα RBCs δότη, είναι επικαλυμμένα με αντίσωμα ασθενούς. Στη συνέχεια πλένονται και ελέγχονται για συγκόλληση με ορό αντισφαιρίνης. Στον ασθενή, το αυτοαντίσωμα που συνδέεται με τα RBCs και το ελεύθερο αυτοαντίσωμα πλάσματος υπάρχουν σε μια αναστρέψιμη δυναμική ισορροπία (63,64).

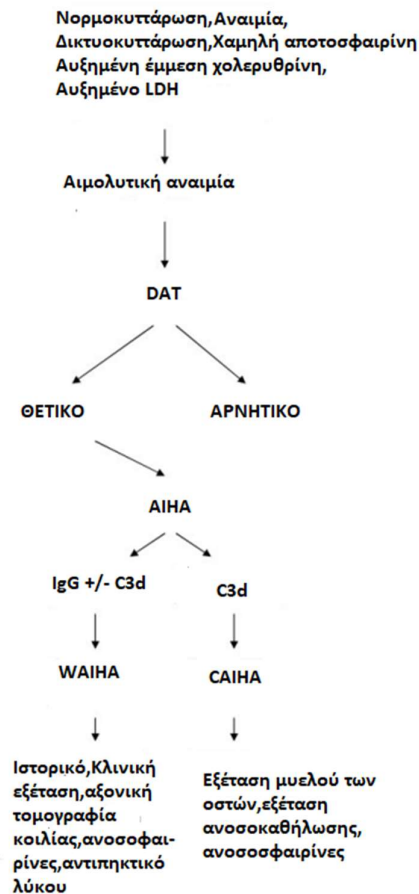


Εικόνα 5: Α. Άμεση δοκιμή αντισφαιρίνης. Ερυθρά αιμοσφαίρια επικαλυμμένα με IgG που λαμβάνονται από ασθενή με αυτοάνοσο θερμό αντίσωμα πλένονται και εναιωρούνται σε ρυθμιστικό διάλυμα. Προστίθεται αντιδραστήριο αντισφαιρίνης που περιέχει αντίσωμα για IgG. Εμφανίζεται ορατή συγκόλληση όταν το anti-IgG συνδεθεί με τα επικαλυμμένα με IgG RBC, επιβεβαιώνοντας την ύπαρξη IgG. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια επικαλυμμένα με πρωτεΐνες συμπληρώματος μπορεί να συσκολληθούν με παρόμοιο τρόπο με ένα αντιδραστήριο αντισφαιρίνης που περιέχει αντίσωμα κατά του συμπληρώματος. Β. Έμμεση εξέταση αντισφαιρίνης. Ορός από α ασθενή που κυκλοφορεί ελεύθερο αντίσωμα IgG επωάζεται με RBC από έναν πιθανό δότη. Τα κύτταρα πλένονται, επαναιωρούνται σε ρυθμιστικό διάλυμα και περαιτέρω επωάζονται με αντιδραστήριο αντισφαιρίνης που περιέχει αντίσωμα έναντι του IgG. Η ορατή συγκόλληση υποδηλώνει ότι το αντίσωμα IgG από τον ορό του ασθενούς έχει δεσμευτεί στα RBCs (2).

Σε περίπτωση υποψίας AIHA και ενώ η δοκιμασία DAT είναι αρνητική υπάρχουν πιο εξελιγμένες τεχνικές οι οποίες όμως δεν πραγματοποιούνται ως ρουτίνα στα περισσότερα εργαστήρια. Τέτοιες είναι η δοκιμή στερέωσης συμπληρώματος, δοκιμές συνδεδεμένες με ένζυμα και ραδιοσημασμένα τεστ, η κυτταρομετρία ροής και η δοκιμή με διεγερμένο μιτογόνο (MS)-DAT (65,66). Όσον αφορά την αρνητική DAT σε περίπτωση AIHA, η κυτταρομετρία ροής έδειξε ότι ανιχνεύει έως και 30–40 μόρια αυτοαντισωμάτων κατά των ερυθροκυττάρων. Επιτρέπει τη διάγνωση σε ένα συγκεκριμένο αριθμό περιπτώσεων, με 100% ευαισθησία και ειδικότητα. Ωστόσο ανοικτό ενδεχόμενο παραμένει ο παθογόνος ρόλος των

χαμηλών ποσοτήτων αντισωμάτων, αν και πρόσφατα έχει αναφερθεί μια θετική προγνωστική αξία για αιμόλυση τόσο για το IgG όσο και για το C3d που είναι συνδεδεμένα με ερυθροκύτταρα (67,68).

Επιπλέον μελέτες έχουν δείξει ότι η αυξημένη γαλακτική αφυδρογονάση (LDH) και τα μειωμένα επίπεδα απτοσφαιρίνης αποτελούν ενδείξεις για AIHA. Η εξέταση του επιχρίσματος περιφερικού αίματος μπορεί να αποκαλύψει χαρακτηριστικά καταστροφής των ερυθροκυττάρων, όπως σφαιροκυττάρωση, εμπύρνη αμοσφαίρια και πολυχρωμία. Πρόσθετες εργαστηριακές εξετάσεις, συμπεριλαμβανομένου του αριθμού των δικτυοερυθροκυττάρων και της έμμεσης χολερυθρίνης, παρέχουν περαιτέρω ενδείξεις αιμόλυσης (7).



Εικόνα 6: Διαγνωστικό μονοπάτι για την AIHA. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα διαγνωστικών εξετάσεων και στην κατάληξη για αιμολυτική αναιμία, επιλέγεται ως διαγνωστική προσέγγιση η μέθοδος DAT. Ανάλογα με το εάν είναι θετική ή αρνητική καταλήγουμε αν πρόκειται για AIHA. Σε περίπτωση θετικής DAT και παρουσίας ή μη IgG και συμπληρώματος τότε ταξινομείται σε θερμή ή ψυχρή AIHA και ακολουθείται επιμέρους θεραπευτική προσέγγιση (28).

4. Επιδημιολογία της ΑΙΗΑ

Η επιδημιολογία της ΑΙΗΑ είναι δύσκολο να εκτιμηθεί λόγω της σπανιότητας της νόσου αλλά και της έλλειψης πληθυσμιακών μελετών μεγάλης κλίμακας. Ωστόσο, μελέτες έχουν ρίξει φως στην εμφάνισή της. Μία μελέτη που διεξήχθη για τον επιπολασμό της νόσου ανέφερε πως μια εκτιμώμενη εμφάνιση της ΑΙΗΑ είναι σε 1 έως 3 περιπτώσεις ανά 100.000 άτομα ετησίως (69). Μία άλλη πιο πρόσφατη σχετικά μελέτη ανέφερε πως ο επιπολασμός κυμαίνεται από 10 έως 20 περιπτώσεις ανά 100.000 άτομα (30).

Όσον αφορά την γεωγραφική κατανομή οι μελέτες αναφέρουν υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης ΑΙΗΑ στις χώρες της Βόρειας Ευρώπης σε σύγκριση με τις χώρες της Νότιας Ευρώπης. Ομοίως, η ΑΙΗΑ έχει αναφερθεί ότι είναι πιο διαδεδομένη σε ορισμένες εθνικότητες, όπως οι Αφροαμερικανοί και τα άτομα μεσογειακής καταγωγής. Αυτές οι γεωγραφικές παραλλαγές μπορεί να οφείλονται σε διάφορους γενετικούς, περιβαλλοντικούς ή άλλους παράγοντες που δεν έχουν ακόμη καθοριστεί που επηρεάζουν την ευαισθησία σε ασθένειες όπως αυτή (70).

Σε ότι αφορά την κατανομή ανάλογα με την ηλικία και το φύλο η συχνότητά του ποικίλλει σε διαφορετικές ηλικιακές ομάδες. Η θερμή ΑΙΗΑ είναι πιο διαδεδομένη στους ενήλικες σε αντίθεση με την ψυχρή ΑΙΗΑ που είναι πιο συχνή σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας, ιδιαίτερα σε άτομα άνω των 60 ετών. Για την κατανομή ανάλογα με το φύλο, η ΑΙΗΑ στις γυναίκες επικρατεί μια ελαφριά υπεροχή, αν και αυτή ποικίλλει ανάλογα με τον υπότυπο και την υποκείμενη αιτιολογία. Για παράδειγμα, η πρωτοπαθής θερμή ΑΙΗΑ έχει αναφερθεί ότι είναι πιο συχνή στις γυναίκες, ενώ η πρωτοπαθής ψυχρή ΑΙΗΑ εμφανίζεται πιο συχνή στους άνδρες (2,71). Η πρωτογενής CAD έχει αναφερθεί ότι αντιπροσωπεύει περίπου το 15% της ΑΙΗΑ συνολικά (72). Η νόσος περιορίζεται κυρίως σε ενήλικες. Ωστόσο μπορεί να προσβληθούν και παιδιά με πρωτοπαθή νόσο ανοσοανεπάρκειας ή αυτοάνοσο λεμφοπολλαπλασιαστικό σύνδρομο. Οι ενήλικες αναπτύσσουν συνήθως μια πιο σοβαρή πορεία ασθένειας που συχνά απαιτεί θεραπεία και μπορεί να είναι και απειλητική για τη ζωή. Σε αντίθεση τα παιδιά αναπτύσσουν μια πιο ομαλή πορεία ασθένειας που επισπεύδεται από ιογενείς λοιμώξεις (73,74).

Ένα ακόμα σημαντικό ποσοστό περίπου το 7-8% των ΑΙΗΑ αφορά τους ασθενείς που έχουν τόσο θερμά όσο και ψυχρά αυτοαντισώματα. Εμφανίζουν συνήθως οξεία αιμό-

λυση. Η εμφάνιση της MCAD σχετίζεται συνήθως σε ποσοστό 25-42% με συστηματικό ερυθματώδη λύκο (75).

5. Θεραπεία της ΑΙΗΑ

5.1 Θεραπεία στην θερμή ΑΙΗΑ

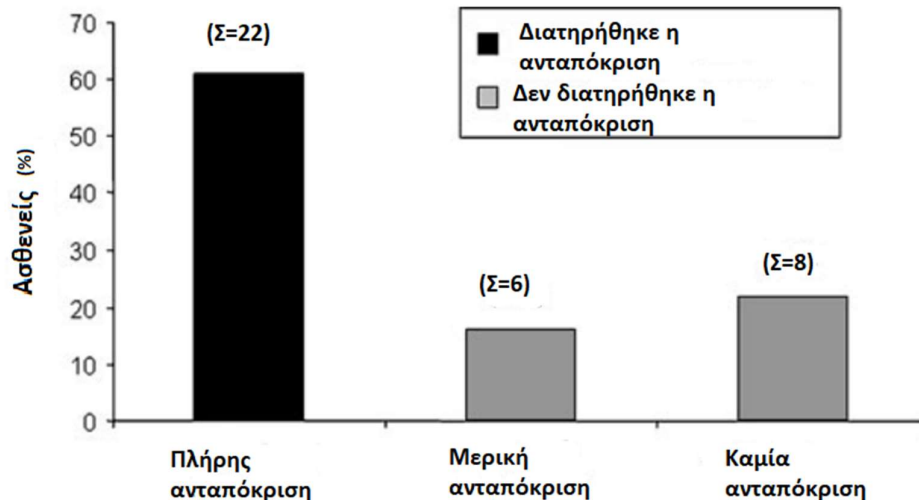
Με την εξέλιξη των μελετών και της επιστήμης έχουν ανακαλυφθεί διάφορες θεραπευτικές προσεγγίσεις τόσο για την θερμή ΑΙΗΑ όσο και για την ψυχρή ΑΙΗΑ.

Συγκεκριμένα για την θεραπεία ασθενών με θερμή ΑΙΗΑ μιας πρώτης γραμμής θεραπεία είναι τα κορτικοστεροειδή. Η χρήση των κορτικοστεροειδών βασίζεται σε εμπειρικά και μόνο στοιχεία καθώς υπάρχουν ελάχιστες δημοσιευμένες πληροφορίες για την αποτελεσματικότητά όπως επίσης και απουσία κλινικών δοκιμών (76,77). Τα κορτικοστεροειδή, συνήθως η πρεδνιζόνη, χορηγούνται στην αρχική δόση των 1,0-1,5 mg/kg/ημέρα για 1 έως 3 εβδομάδες με στόχο τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης να φτάσουν μεγαλύτερα από 10 g/dL. Η ανταπόκριση στην συγκεκριμένη θεραπεία εμφανίζεται κυρίως κατά τη δεύτερη εβδομάδα. Αν δεν υπάρξει καμία ή ελάχιστη βελτίωση ύστερα από την χορήγηση του τότε την τρίτη εβδομάδα, αυτή η θεραπεία θεωρείται αναποτελεσματική. Αν υπάρξει σταθεροποίηση της αιμοσφαιρίνης, τότε η πρεδνιζόνη θα πρέπει να μειωθεί σταδιακά στα 10-15 mg εβδομαδιαίως και στη συνέχεια κατά 5 mg κάθε 1-2 εβδομάδες έως τη δόση των 15 mg και στη συνέχεια κατά 2,5 mg κάθε δύο εβδομάδες με στόχο την απόσυρση του φαρμάκου. Οι ασθενείς με ΑΙΗΑ θα πρέπει να λαμβάνουν θεραπεία για τουλάχιστον τρεις με τέσσερις μήνες με χαμηλές δόσεις πρεδνιζόνης (≤ 10 mg/ημέρα). Σύμφωνα με τα στοιχεία οι ασθενείς που λαμβάνουν χαμηλές δόσεις κορτικοστεροειδών για περισσότερο από έξι μήνες έχουν χαμηλότερη συχνότητα υποτροπής και μεγαλύτερη διάρκεια ύφεσης από εκείνους που διέκοψαν το φάρμακο εντός έξι μηνών (78). Επίσης σύμφωνα με τα αποτελέσματα μια πρώιμη θεραπείας με στεροειδή σχετίζεται με χαμηλή πιθανότητα υποτροπής της νόσου (76). Οι ασθενείς με ΑΙΗΑ που λαμβάνουν παρατεταμένη θεραπεία με στεροειδή θα πρέπει να τους χορηγούνται συμπληρώματα διφωσφονικών, βιταμίνης D, ασβεστίου και φολικού οξέος (28). Ασθενείς με ιδιαίτερα ταχεία αιμόλυση και πολύ σοβαρή αναιμία μπορεί να χρειαστούν να τους χορηγηθεί ενδοφλέβια μεθυλπρεδνιζολόνη σε δόση 100-200 mg/ημέρα για 10 με 14 ημέρες ή 250-1000 mg/ημέρα για 1-3 ημέρες (79,80). Τα κορτικοστεροειδή ως θεραπεία πρώτης γραμμής πρόκειται να ανταποκριθεί στο 70-85% των ασθενών. Ωστόσο, μόνο 1 στις 3 περιπτώσεις παραμένει σε μακροχρόνια ύφεση μετά τη διακοπή του φαρμάκου. Ένα επιπλέον 50% απαιτεί δόσεις συντήρησης και περίπου το 20-30% χρειάζεται επιπλέον δευτερεύοντες θεραπείες. Δεν υπάρχουν δημοσιευμένα συγκεντρωτικά στοιχεία για το πό-

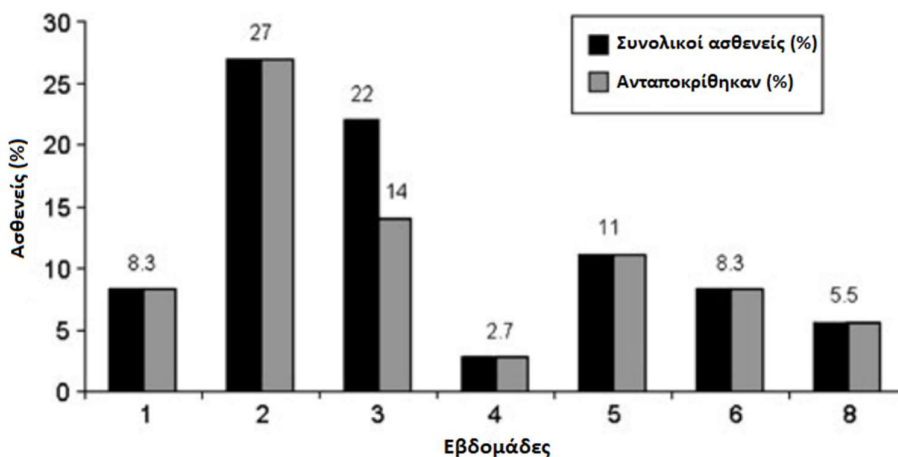
σοι ενήλικες ασθενείς μόνο με στεροειδή, αλλά εκτιμάται ότι αυτό συμβαίνει σε λιγότερο από το 20%. Οι ασθενείς εκείνη που δεν ανταποκρίνονται σε θεραπεία πρώτης γραμμής, δηλαδή στην θεραπεία με στεροειδή τότε θα πρέπει να υποβληθούν σε διαγνωστική επανεκτίμηση για πιθανή υποκείμενη νόσο, καθώς η ΑΙΗΑ σχετίζεται για παράδειγμα με κακοήθεις όγκους ή ελκώδη κολίτιδα, ή με αυτοαντισώματα που είναι συχνά ανθεκτικά στα στεροειδή (28). Μια από τις σημαντικές καταγεγραμμένες μελέτες αποτελεί η χορήγηση danazol. Πρόκειται για ένα συνθετικό αναβολικό στεροειδές το οποίο χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία σε 28 ασθενείς με ΑΙΗΑ ταυτόχρονα με ή μετά από κάποιο στεροειδή (81).

Ως κύρια θεραπεία δεύτερης γραμμής για την θερμή ΑΙΗΑ θεωρείται η σπληνεκτομή η οποία είναι και η πιο αποτελεσματική και προτείνεται σε ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται ή έχουν δυσανεξία στα κορτικοστεροειδή ή σε εκείνους που απαιτούν ημερήσια δόση συντήρησης πρεδνιζόνης μεγαλύτερη από 10 mg, αλλά και σε ασθενείς με πολλαπλές υποτροπές (28). Εκείνα που κατατάσσουν την σπληνεκτομή ως η κύρια θεραπεία δεύτερης γραμμής είναι η αποτελεσματικότητά της και το καλό ποσοστό αρχικής ανταπόκρισης. Έχει επιτυχία με μερική ή πλήρης ύφεση σε περίπου 2 στους 3 ασθενείς (80). Σημαντικό επίσης είναι πως ασθενείς με επίμονη ή υποτροπιάζουσα αιμόλυση, μετά από σπληνεκτομή συχνά απαιτούν χαμηλότερες δόσεις κορτικοστεροειδών από ότι πριν από την επέμβαση. Ο σπλήνας είναι ένα κύριο όργανο για τη σύνθεση αντισωμάτων και της ανοσολογικής καταστροφής των επικαλυμμένων με IgG RBCs. Αυτός είναι και ο λόγος που θεωρείται η πιο αποτελεσματική δεύτερης γραμμής θεραπεία της θερμής ΑΙΗΑ (28).

Μία ακόμα σημαντική θεραπεία που έχει εφαρμοστεί είναι εκείνη με το μονοκλωνικό αντίσωμα rituximab. Το rituximab στρέφεται κατά του αντιγόνου CD20 που εκφράζεται στα Β κύτταρα και έχει αποδειχθεί αποτελεσματικό έναντι της ΑΙΗΑ. Αν και η σύγκριση των ποσοστών απόκρισης σε διάφορες μελέτες είναι δύσκολη εξαιτίας απουσίας κοινών κριτηρίων απόκρισης. Μελέτες ανέφεραν ότι το rituximab σε ποσότητα 375 mg/m² εβδομαδιαίως για διάστημα 4 εβδομάδες είναι αποτελεσματικό στη θεραπεία τόσο της θερμής ΑΙΗΑ όσο και της CAD, με μέσο ποσοστό ανταπόκρισης υψηλότερο στην θερμή (82,83). Κλινική δοκιμή εφαρμόστηκε σε 36 ασθενείς με σκοπό να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα του rituximab σε ασθενείς με ΑΙΗΑ οι οποίοι ήταν ανθεκτικοί σε διάφορες θεραπείες. Είχαν λάβει ήδη κατά μέσο όρο τέσσερις προηγούμενες θεραπείες και 13 ασθενείς από αυτούς είχαν υποβληθεί και σε σπληνεκτομή (εικόνα 7 και 8) (84).



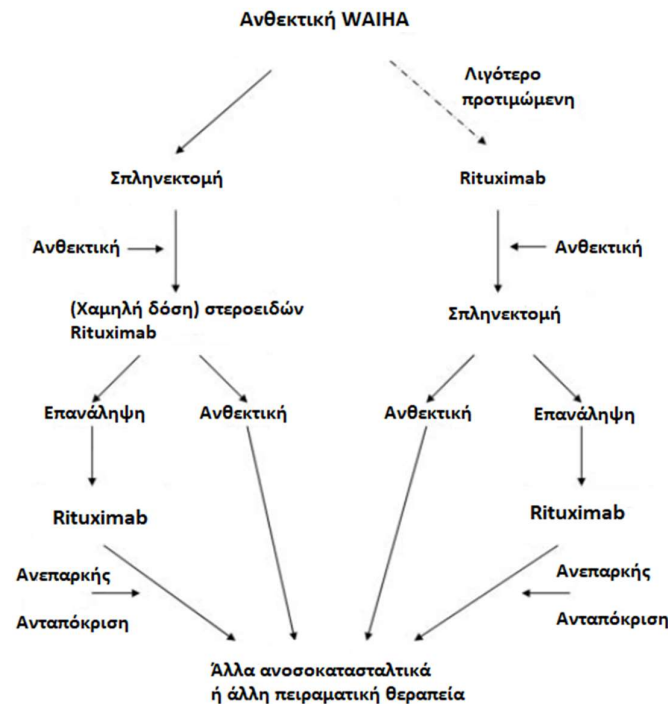
Εικόνα 7: Κλινική δοκιμή απόκρισης θεραπείας με rituximab σε 36 ασθενείς. Είκοσι δύο ασθενείς πέτυχαν πλήρης ανταπόκριση (61%) και 6 ασθενείς έλαβαν μερική ανταπόκριση (16%), 8 ασθενείς δεν ανταποκρίθηκαν καθόλου (84%).



Εικόνα 8: Ο χρόνος ανταπόκρισης στη θεραπεία με rituximab στην κλινική δοκιμή της εικόνας 7. Οι περισσότερες ανταποκρίσεις πραγματοποιήθηκαν μεταξύ της πρώτης και της τρίτης εβδομάδας. Συγκεκριμένα στο διάστημα αυτό ανταποκρίθηκαν 18 ασθενείς, δηλαδή 82% των ανταποκρινόμενων. Μόνο 5 ασθενείς ανταποκρίθηκαν μεταξύ 6 και 8 εβδομάδων (84%).

Το rituximab έχει αποδειχθεί πως είναι αποτελεσματικό τόσο σε πρωτοπαθή όσο και σε δευτεροπαθή ΑΙΗΑ. Ακόμα συμπεριλαμβάνονται και εκείνες που σχετίζονται με αυτοάνοσες και λεμφοπλασσιαστικές διαταραχές και μεταμόσχευση μυελού των οστών. Ανταπόκριση στη θεραπεία παρατηρήθηκε και σε θεραπεία μόνο με rituximab αλλά και σε συνδυασμό με κορτικοστεροειδή, ανοσοκατασταλτικά φάρμακα και ιντερφερόνη-α και α-

νεξάρτητα από προηγούμενη θεραπεία (82–86). Ο χρόνος ανταπόκρισης ποικίλλει στους ασθενείς. Ορισμένοι ανταποκρίνονται πολύ σύντομα από την έναρξη της θεραπείας σε αντίθεση με άλλους που χρειάζονται εβδομάδες ή και μήνες για να επιτύχουν τη μέγιστη ανταπόκρισή τους (85,87).



Εικόνα 9: Μονοπάτι θεραπείας σε πάσχοντες με θερμή AIHA οι οποίοι είναι ανθεκτικοί στα στεροειδή. Η ακολουθία των θεραπειών δεύτερης γραμμής που συνιστάται να ακολουθηθεί είναι η σπληνεκτομή ή το rituximab και στη συνέχεια οποιοδήποτε από τα ανοσοκατασταλτικά φάρμακα (28).

Οι ενδοφλέβιες ανοσοσφαιρίνες (IVIg) χρησιμοποιούνται συχνά στην AIHA, σε συνδυασμό ή μη με πρεδνιζόνη (88). Με καλή ανταπόκριση επιτεύχθηκε σύμφωνα με την καταγραφή της θεραπείας σε 5 ασθενείς με υποτροπιάζουσα θερμή AIHA που σχετίζεται με ΧΛΛ. Τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης ανακτήθηκαν τάχιστα. Τα αποτελέσματα ήταν ταχύτερα όταν συνδυάστηκαν υψηλή δόση IVIG με πρεδνιζόνη. Ωστόσο οι τελευταίες μελέτες έδειξαν ότι δεν συνιστάται υψηλή δόση ανοσοσφαιρίνης για χρήση σε AIHA, παρά μόνο αν η νόσος εξελίσσεται σε απειλητική για την ζωή (89,90).

Μια ακόμα θεραπεία για την θερμή AIHA είναι η μεταφορά πλάσματος. Σε ασθενείς με σοβαρή αναιμία έγινε χρήση της συγκεκριμένης θεραπείας στους οποίους η αναιμία δεν μπορούσε να σταθεροποιηθεί μόνο με στεροειδή. Τα αποτελέσματα ωστόσο ήταν

ασυνεπή και η ταυτόχρονη θεραπεία με στεροειδή και ανοσοκατασταλτικά φάρμακα συχνά καθιστούσε δύσκολο τον καθορισμό της συμβολής αυτής της διαδικασίας στο αποτέλεσμα (91).

5.2 Θεραπεία στην ψυχρή ΑΙΗΑ

Για την θεραπεία της ψυχρής ΑΙΗΑ που προκαλείται από CA σε ασθενείς με συμπτωματική αναιμία και προβλήματα στο κυκλοφορικό, δηλαδή σε ασθενείς με σοβαρή εξέλιξη της νόσου χρειάζεται μετάγγιση αίματος. Ενώ αντίθετα ασθενείς με όχι τόσο σοβαρή και ασυμπτωματική μορφή από CA συνίσταται η αποφυγή του ασθενή σε έκθεση πολύ χαμηλών θερμοκρασιών καθώς επίσης και κάποια περιστασιακή μετάγγιση ως υποστηρικτική θεραπεία κυρίως την χειμερινή περίοδο (35,40). Οι μεταγγίσεις ερυθροκυττάρων πρέπει να γίνουν με ασφάλεια, και να λαμβάνονται οι κατάλληλες προφυλάξεις. Συγκεκριμένα, ο ασθενής και το άκρο που έχει επιλεχθεί για έγχυση θα πρέπει να διατηρούνται ζεστά. Επιπλέον συνιστάται η χρήση θερμαντήρα αίματος. Θα πρέπει να αποφευχθεί η έγχυση ψυχρών υγρών και προϊόντων αίματος με υψηλή περιεκτικότητα σε πλάσμα (35,92).

Όσον αφορά την θεραπεία με συμβατικά κυτταροτοξικά ανοσοκατασταλτικά φάρμακα, η μονοθεραπεία με χλωραμβουκίλη ή κυκλοφωσφαμίδη έχει δείξει κάποια θετική επίδραση αλλά σε μικρό αριθμό περιπτώσεων. Ενώ δεν παρατηρήθηκε ανταπόκριση στην θεραπεία με αζαθειοπρίνη και και ιντερφερόνη-α, ή χαμηλής δόσης κλαντριβίνης που χορηγήθηκε σε λίγους ασθενείς (93–95).

Μία ακόμα θεραπεία είναι εκείνη με χορήγηση ερυθροποιητίνης, που χρησιμοποιείται στις ΗΠΑ αλλά όχι τόσο συχνά στη Δυτική και Βόρεια Ευρώπη. Ωστόσο δεν υπάρχει απόδειξη αποτελεσματικότητας (35).

Η θεραπεία εκείνη όπου τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται περισσότερο τόσο στην θερμή όσο και στην ψυχρή ΑΙΗΑ είναι η θεραπεία με μονοκλωνικό αντίσωμα rituximab. Η χρήση του rituximab τα τελευταία χρόνια έχει αλλάξει ουσιαστικά την προσέγγιση της νόσου από CA. Αυτό το φάρμακο στρέφεται εναντίον του παθογόνου κλώνου των Β κυττάρων, ο οποίος ανιχνεύεται στην πλειονότητα των ασθενών με κυτταρομετρία ροής (35,42). Σύμφωνα με τις μελέτες έχει αναφερθεί αποτελεσματική περίπου στο 60% των περιπτώσεων, με διάρκεια απόκρισης ενός έτους (82,83,96,97). Ο μέσος χρόνος ανταπόκρισης στην θεραπεία ήταν περίπου 1-2 μήνες. Παρατηρήθηκε ανταπόκριση ακόμα και σε υ-

ποτροπιάζουσες περιπτώσεις. Το rituximab συνιστάται πλέον ως θεραπεία πρώτης γραμμής, ακόμα και αν οι πλήρεις και παρατεταμένες υφέσεις είναι ασυνήθιστες (35,42). Σε μια ακόμα πρόσφατη μελέτη 89 ασθενών, το rituximab συσχετίστηκε με ποσοστά ανταπόκρισης περίπου 80%. Τόσο ως μονοθεραπεία όσο και ως συνδυαστική. Το αποτέλεσμα ήταν μεγαλύτερη διάρκεια ανταπόκρισης με περίπου μέση τιμή τα 2 χρόνια και χαμηλότερο ποσοστό ασθενών που χρειάζονταν περαιτέρω θεραπεία. Περίπου το 55% (42).

Η χρήση της πλασμαφαίρεσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε οξεία αιμολυτική κρίση και πριν από τη χειρουργική επέμβαση που απαιτεί υποθερμία αλλά δεν χρησιμοποιείται ευρέως διότι η επίδρασή της είναι παροδική (98,99).

Δεν υπάρχει θεραπεία βασισμένη σε στοιχεία για ψυχρή ΑΙΗΑ που οφείλεται σε κακοήθεις ή μολυσματικές ασθένειες. Στην θεραπεία της υποκείμενης νόσου συνοδεύεται από επίλυση της αιμόλυσης, ιδιαίτερα σε λεμφοπολλαπλασιαστικές ασθένειες και πνευμονία από μυκόπλασμα. Η θεραπεία με κορτικοστεροειδή αποτελεί αντικείμενο συζήτησης, ιδιαίτερα στη νόσο που οφείλεται σε λοίμωξη. Η χρήση τους προτείνεται σε σοβαρές μορφές ή σε περιπτώσεις που δεν υπάρχει βελτίωση μέσα σε λίγες μέρες (92). Τέλος η σπληνεκτομή στην ψυχρή ΑΙΗΑ είναι συνήθως αναποτελεσματική, διότι τα περισσότερα RBCs μεταφέρονται στο ήπαρ (42).

6. Ιστορική Αναδρομή της ΑΙΗΑ

Η εμφάνιση της ΑΙΗΑ χρονολογείται ιστορικά περίπου από τα τέλη του 19ου αιώνα, όταν περιεγράφηκαν αρκετές περιπτώσεις σοβαρής αναιμίας με ενδείξεις αιμόλυσης. Μεταγενέστερες μελέτες επιβεβαίωσαν την αυτοάνοση φύση της νόσου, αποκαλύπτοντας την παρουσία αυτοαντισωμάτων που στοχεύουν διάφορα αντιγόνα των ερυθρών αιμοσφαιρίων, όπως το αντιγόνο Rh ή αυτοαντισώματα που στρέφονται κατά των πρωτεϊνών της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων. Με το πέρασ των χρόνων, οι επιστήμονες σημείωσαν σημαντική πρόοδο στην κατανόηση της παθογένειας και των κλινικών χαρακτηριστικών της ΑΙΗΑ. Στη δεκαετία του 1950, το τεστ Coombs, γνωστό και ως άμεση δοκιμή αντισφαιρίνης (DAT), αναπτύχθηκε ως διαγνωστικό εργαλείο για την ανίχνευση της παρουσίας αντισωμάτων στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Αυτή η διαγνωστική δοκιμή αποτέλεσε την βάση για την διάγνωση της ΑΙΗΑ, επιτρέποντας μια πιο ακριβή ταξινόμηση και επακόλουθες θεραπευτικές προσεγγίσεις (100,101).

Στις δεκαετίες του 1960 και του 1970, ο ρόλος των κορτικοστεροειδών, στη διαχείριση της ΑΙΗΑ έγινε εμφανής. Τα κορτικοστεροειδή αποδείχθηκαν αποτελεσματικά στην καταστολή της αυτοάνοσης απόκρισης, στη μείωση της αιμόλυσης και στη βελτίωση των συμπτωμάτων των ασθενών. Ωστόσο, ορισμένα άτομα ανέπτυξαν ανοχή στα κορτικοστεροειδή ή παρουσίασαν σημαντικές παρενέργειες, οδηγώντας στην αναζήτηση εναλλακτικών επιλογών θεραπείας (102). Τα τελευταία χρόνια, η πρόοδος και η κατανόηση για το ανοσοποιητικό σύστημα και τους μηχανισμούς που διέπουν την ΑΙΗΑ έχουν προσφέρει νέες αποτελεσματικές θεραπείες. Ο εντοπισμός συγκεκριμένων αυτοαντιγόνων που εμπλέκονται στη νόσο, οδήγησε στην ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών. Το rituximab, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει τα CD20-θετικά Β-λεμφοκύτταρα είναι μία από αυτές. Πρόκειται για μια πολλά υποσχόμενη θεραπεία είτε αν πρόκειται να χρησιμοποιηθεί σε μια υποτροπιάζουσα ΑΙΗΑ είτε σε μια ανθεκτική. Σκοπός της χρήσης του rituximab είναι η εξάντληση των αυτοαντιδραστικών Β κυττάρων και η μείωση της παραγωγής των αντισωμάτων (29,82).

7. Περιορισμοί έρευνας ΑΙΗΑ

Η ΑΙΗΑ χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια. Περιλαμβάνει ένα φάσμα υποτύπων με ποικίλα κλινικά και ανοσολογικά χαρακτηριστικά. Οι υπάρχουσες μέχρι στιγμής ανακαλύψεις αποτυγχάνουν ορισμένες φορές να αντιμετωπίσουν επαρκώς αυτήν την ετερογένεια. Για παράδειγμα, οι μελέτες και οι κλινικές δοκιμές μπορεί να συνδυάζουν διαφορετικούς υποτύπους ΑΙΗΑ, καθιστώντας δύσκολη την εξαγωγή συγκεκριμένων συμπερασμάτων για μεμονωμένους υποτύπους. Αυτός ο περιορισμός υπονομεύει την ικανότητα αναγνώρισης υποτύπων διαγνωστικών δεικτών ή στοχευμένων επιλογών θεραπείας (58).

Αρκετές μελέτες στην ΑΙΗΑ εξαιτίας των μικρών μεγεθών δειγμάτων, περιορίζονται στην γενίκευση των ευρημάτων τους. Επιπλέον, υπάρχει έλλειψη τυποποίησης στα διαγνωστικά κριτήρια, στα μέτρα έκβασης και στα πρωτόκολλα θεραπείας σε διάφορες μελέτες. Αυτή η μεγάλη ετερογένεια εμποδίζει την ικανότητα σύγκρισης αποτελεσμάτων και συγκέντρωσης δεδομένων, με αποτέλεσμα να εμποδίζεται έτσι η δημιουργία ισχυρών κατευθυντήριων γραμμών που βασίζονται σε συγκεκριμένα στοιχεία (7,102).

Τέλος η έλλειψη διαχρονικών μελετών σε ασθενείς με ΑΙΗΑ προκαλεί περιορισμό στην εξέλιξη της έρευνας της νόσου. Η ΑΙΗΑ πρόκειται για μια χρόνια πάθηση που συχνά απαιτεί μακροχρόνια αντιμετώπιση. Απαιτείται η αξιολόγηση του φυσικού ιστορικού, η παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου και η ανταπόκριση στη θεραπεία σε ασθενείς με ΑΙΗΑ. Οι διαχρονικές μελέτες είναι ζωτικής σημασίας για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των παρεμβάσεων, την κατανόηση των προτύπων υποτροπής και τον εντοπισμό προγνωστικών παραγόντων για πραγματοποίηση μακροπρόθεσμων αποτελεσμάτων (29,101).

8. Συμπέρασμα

Μετά από την βιβλιογραφική ανασκόπηση της ασθένειας συμπεραίνουμε πως πρόκειται για μία σπάνια νόσο που δεν γνωρίζουμε πιο συγκεκριμένα για το σε ποιες πληθυσμιακές ομάδες ευδοκιμάζει ώστε να επικεντρωθούν οι μελέτες σε αυτές προκειμένου να υπάρξουν νέα ερευνητικά αποτελέσματα για την αντιμετώπισή της. Επιπλέον δεν υπάρχουν ξεκάθαρα δεδομένα για το πού ακριβώς οφείλεται η εμφάνιση της νόσου. Οι γενετικές και περιβαλλοντικές αιτίες εμφανίζονται ως πιθανές για την εμφάνιση της ασθένειας χωρίς όμως να είναι μόνο αυτές. Υποκείμενα και άλλα αυτοάνοσσα νοσήματα εμφανίζονται στις περισσότερες περιπτώσεις ως οι κύριες αιτίες για την εμφάνιση της ΑΙΗΑ. Μια βασική αιτία δυσκολίας της μελέτης και της θεραπευτικής προσέγγισης της ΑΙΗΑ είναι η μεγάλη ετερογένεια που εμφανίζει. Ωστόσο η πρόοδος της επιστήμης έχει βοηθήσει να μπορεί να γίνει γρήγορη διάγνωση και παροχή εναλλακτικών θεραπειών για την αντιμετώπισή της. Για παράδειγμα η κυτταρομετρία ροής παρόλο που δεν χρησιμοποιείται ως πρωτεύον μορφή διάγνωσης και δεν πραγματοποιείται στα περισσότερα εργαστήρια αποτελεί μια πολύ ταχιστή και συγκεκριμένη διαγνωστική προσέγγιση. Επιπλέον η θεραπεία με το μονοκλωνικό αντίσωμα με rituximab παρόλο που είναι σχετικά πρόσφατη αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη θεραπεία της ΑΙΗΑ είτε αν τα αυτοαντισώματα είναι θερμά είτε ψυχρά. Χωρίς αυτό να σημαίνει πως και οι υπόλοιπες θεραπευτικές προσεγγίσεις (μετάγγιση, κορτικοστεροειδή, ανοσοσφαιρίνες κλπ) δεν μπορούν να αποβούν το ίδιο αποτελεσματικές. Συνήθως η παρουσία αιμόλυσης σε συνδυασμό με την θετική εξέταση αντισφαιρίνης κρούουν τον κώδωνα της πιθανής εμφάνισης της αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας. Σημαντικό ρόλο στην διάγνωση και αντιμετώπιση της ΑΙΗΑ έχει παίξει η προσπάθεια κατανόησης των μηχανισμών παθογένεσής της. Η πρόοδος της έρευνας σε αυτό το κομμάτι έχει βοηθήσει αξιοσημείωτα. Τέλος, παρόλο που η θεραπεία που θα λάβουν οι ασθενείς με ΑΙΗΑ μπορεί να είναι χρονοβόρα και η ανταπόκριση άλλες φορές μπορεί να είναι σύντομη και άλλες όχι, αυτό δεν σημαίνει ότι δεν μπορούν να έχουν ένα υψηλό βιοτικό και να μπορούν να συνεχίσουν να ζουν κανονικά.

Αναφορές

1. Hill QA, Stamps R, Massey E, Grainger JD, Provan D, Hill A. The diagnosis and management of primary autoimmune haemolytic anaemia. *Br J Haematol* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2023 Apr 20];176(3):395–411. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/bjh.14478>
2. Packman CH. Hemolytic anemia due to warm autoantibodies. *Blood Rev*. 2008 Jan 1;22(1):17–31.
3. Barcellini W, Fattizzo B. Clinical Applications of Hemolytic Markers in the Differential Diagnosis and Management of Hemolytic Anemia. *Dis Markers* [Internet]. 2015 [cited 2023 Apr 20];2015. Available from: </pmc/articles/PMC4706896/>
4. Cooper GS, Stroehla BC. The epidemiology of autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*. 2003 May 1;2(3):119–25.
5. KOURY MJ, BONDURANT MC. The molecular mechanism of erythropoietin action. *Eur J Biochem* [Internet]. 1992 [cited 2023 Apr 19];210(3):649–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1483451/>
6. Koury MJ, Sawyer ST, Brandt SJ. New insights into erythropoiesis. *Curr Opin Hematol* [Internet]. 2002 [cited 2023 Apr 19];9(2):93–100. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11844990/>
7. Gehrs BC, Friedberg RC. Autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol* [Internet]. 2002 Apr 1 [cited 2023 Apr 20];69(4):258–71. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajh.10062>
8. Berentsen S. How I manage patients with cold agglutinin disease. *Br J Haematol* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2023 Apr 20];181(3):320–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29363757/>
9. Sci-Hub | Anemia of Inflammation. *New England Journal of Medicine*, 381(12), 1148–1157 | 10.1056/NEJMra1804281 [Internet]. [cited 2023 May 4]. Available from: <https://sci-hub.se/10.1056/NEJMra1804281>
10. McLean E, Cogswell M, Egli I, Wojdyla D, De Benoist B. Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993–2005. *Public Health Nutr* [Internet]. 2009 Apr [cited 2023 May 4];12(4):444–54. Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/public-health-nutrition/article/worldwide-prevalence-of-anaemia-who-vitamin-and-mineral-nutrition-information-system-19932005/E201EDE33949AF3D632F6596052FCF8F>
11. Young NS, Calado RT, Scheinberg P. Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia. *Blood* [Internet]. 2006 Oct 15 [cited 2023 May 4];108(8):2509–19. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/108/8/2509/22551/Current-concepts-in-the-pathophysiology-and>

12. Piel FB, Patil AP, Howes RE, Nyangiri OA, Gething PW, Dewi M, et al. Global epidemiology of Sickle haemoglobin in neonates: A contemporary geostatistical model-based map and population estimates. *The Lancet* [Internet]. 2013 Jan 12 [cited 2023 May 4];381(9861):142–51. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S014067361261229X/fulltext>
13. Mohanty JG, Nagababu E, Rifkind JM. Red blood cell oxidative stress impairs oxygen delivery and induces red blood cell aging. *Front Physiol* [Internet]. 2014 [cited 2023 May 28];5. Available from: </pmc/articles/PMC3937982/>
14. Hess JR, Sparrow RL, Van Der Meer PF, Acker JP, Cardigan RA, Devine D V. BLOOD COMPONENTS: Red blood cell hemolysis during blood bank storage: using national quality management data to answer basic scientific questions. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 2009 Dec 1 [cited 2023 May 28];49(12):2599–603. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1537-2995.2009.02275.x>
15. Shaz BH, Stowell SR, Hillyer CD. Transfusion-related acute lung injury: from bedside to bench and back. *Blood* [Internet]. 2011 Feb 3 [cited 2023 May 28];117(5):1463–71. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/117/5/1463/28356/Transfusion-related-acute-lung-injury-from-bedside>
16. Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone M V., Scofield RH, Dennis GJ, James JA, et al. Development of Autoantibodies before the Clinical Onset of Systemic Lupus Erythematosus. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa021933> [Internet]. 2003 Oct 16 [cited 2023 May 31];349(16):1526–33. Available from: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa021933>
17. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, Yamazaki S, Sakihama T, Itoh M, et al. Immunologic tolerance maintained by CD25+ CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev* [Internet]. 2001 Aug 1 [cited 2023 May 31];182(1):18–32. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1034/j.1600-065X.2001.1820102.x>
18. Okada Y, Wu D, Trynka G, Raj T, Terao C, Ikari K, et al. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature* [Internet]. 2014 Feb 2 [cited 2023 May 31];506(7488):376. Available from: </pmc/articles/PMC3944098/>
19. Honda K, Littman DR. The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature* 2016 535:7610 [Internet]. 2016 Jul 6 [cited 2023 May 31];535(7610):75–84. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature18848>
20. Parks CG, Miller FW, Pollard KM, Selmi C, Germolec D, Joyce K, et al. Expert Panel Workshop Consensus Statement on the Role of the Environment in the Development of Autoimmune Disease. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2014 Aug 15 [cited 2023 May 31];15(8):14269. Available from: </pmc/articles/PMC4159850/>

21. Huisjes R, Bogdanova A, van Solinge WW, Schiffelers RM, Kaestner L, van Wijk R. Squeezing for Life - Properties of Red Blood Cell Deformability. *Front Physiol* [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2023 Jun 1];9(JUN). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29910743/>
22. An X, Mohandas N. Disorders of red cell membrane. *Br J Haematol* [Internet]. 2008 May 1 [cited 2023 Jun 1];141(3):367–75. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2141.2008.07091.x>
23. Nagel RL, Fabry ME, Steinberg MH. The paradox of hemoglobin SC disease. *Blood Rev.* 2003 Sep 1;17(3):167–78.
24. Jelkmann W. Regulation of erythropoietin production. *J Physiol* [Internet]. 2011 Mar 3 [cited 2023 Jun 1];589(Pt 6):1251. Available from: </pmc/articles/PMC3082088/>
25. Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol* [Internet]. 2010 Sep [cited 2023 Jul 18];11(9):785–97. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20720586/>
26. Kolev M, Friec G Le, Kemper C. Complement--tapping into new sites and effector systems. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2014 Dec 11 [cited 2023 Jul 18];14(12):811–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25394942/>
27. Merle NS, Noe R, Halbwachs-Mecarelli L, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement System Part II: Role in Immunity. *Front Immunol* [Internet]. 2015 [cited 2023 Jul 18];6(MAY). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26074922/>
28. Lechner K, Jäger U. How I treat autoimmune hemolytic anemias in adults. *Blood* [Internet]. 2010 Sep 16 [cited 2023 May 31];116(11):1831–8. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/116/11/1831/27410/How-I-treat-autoimmune-hemolytic-anemias-in-adults>
29. Barcellini W. New Insights in the Pathogenesis of Autoimmune Hemolytic Anemia. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2023 May 31];42(5):287. Available from: </pmc/articles/PMC4678320/>
30. Barcellini W, Fattizzo B, Zaninoni A, Radice T, Nichele I, Di Bona E, et al. Clinical heterogeneity and predictors of outcome in primary autoimmune hemolytic anemia: a GIMEMA study of 308 patients. *Blood* [Internet]. 2014 Nov 6 [cited 2023 May 31];124(19):2930–6. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/124/19/2930/33292/Clinical-heterogeneity-and-predictors-of-outcome>
31. Kurlander RJ, Rosse WF, Logue GL. Quantitative influence of antibody and complement coating of red cells on monocyte-mediated cell lysis. *J Clin Invest* [Internet]. 1978 [cited 2023 Jul 16];61(5):1309–19. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/96137/>

32. Arndt PA, Leger RM, Garratty G. Serologic findings in autoimmune hemolytic anemia associated with immunoglobulin M warm autoantibodies. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 2009 Feb [cited 2023 Jul 16];49(2):235–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18980619/>
33. Packman CH. Hemolytic anemia due to warm autoantibodies. *Blood Rev.* 2008 Jan 1;22(1):17–31.
34. Ulvestad E, Berentsen S, Bø K, Shammass F V. Clinical immunology of chronic cold agglutinin disease. *Eur J Haematol* [Internet]. 1999 [cited 2023 Jul 9];63(4):259–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10530415/>
35. Berentsen S, Tjønnfjord GE. Diagnosis and treatment of cold agglutinin mediated autoimmune hemolytic anemia. *Blood Rev.* 2012 May 1;26(3):107–15.
36. Jonsen J, Kåss E, Harboe M. Complement and complement components in acquired hemolytic anemia with high titer cold antibodies. *Acta Med Scand* [Internet]. 1961 [cited 2023 Jul 9];170(6):725–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14452388/>
37. Jaffe CJ, Atkinson JP, Frank MM. The role of complement in the clearance of cold agglutinin-sensitized erythrocytes in man. *J Clin Invest* [Internet]. 1976 [cited 2023 Jul 9];58(4):942–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/965497/>
38. Zilow G, Kirschfink M, Roelcke D. Red cell destruction in cold agglutinin disease. *Infusionsther Transfusionsmed* [Internet]. 1994 [cited 2023 Jul 9];21(6):410–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7873920/>
39. Berentsen S, Beiske K, Tjønnfjord GE. Primary chronic cold agglutinin disease: an update on pathogenesis, clinical features and therapy. *Hematology* [Internet]. 2007 Oct [cited 2023 Jul 9];12(5):361–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17891600/>
40. Berentsen S. How I manage cold agglutinin disease. *Br J Haematol* [Internet]. 2011 May 1 [cited 2023 Jun 8];153(3):309–17. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2141.2011.08643.x>
41. Garratty G, Arndt PA. Drugs that have been shown to cause drug-induced immune hemolytic anemia or positive direct antiglobulin tests: some interesting findings since 2007. *Immunohematology* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jun 8];30(2):66–79. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25247621/>
42. Swiecicki PL, Hegerova LT, Gertz MA. Cold agglutinin disease. *Blood* [Internet]. 2013 Aug 15 [cited 2023 Jul 13];122(7):1114–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23757733/>
43. Ulvestad E, Berentsen S, Mollnes TE. Acute phase haemolysis in chronic cold agglutinin disease. *Scand J Immunol* [Internet]. 2001 [cited 2023 Jul 16];54(1–2):239–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11439172/>

44. Swiecicki PL, Hegerova LT, Gertz MA. Cold agglutinin disease. *Blood* [Internet]. 2013 Aug 15 [cited 2023 Jun 6];122(7):1114–21. Available from: <https://dx.doi.org/10.1182/blood-2013-02-474437>
45. Roumier M, Loustau V, Guillaud C, Languille L, Mahevas M, Khellaf M, et al. Characteristics and outcome of warm autoimmune hemolytic anemia in adults: New insights based on a single-center experience with 60 patients. *Am J Hematol* [Internet]. 2014 Sep 1 [cited 2023 Jun 6];89(9):E150–5. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajh.23767>
46. Bass GF, Tuscano ET, Tuscano JM. Diagnosis and classification of autoimmune hemolytic anemia. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jun 6];13(4–5):560–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24418298/>
47. Cioca DP, Kitano K. Apoptosis induction by hypercross-linking of the surface antigen CD5 with anti-CD5 monoclonal antibodies in B cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* [Internet]. 2002 [cited 2023 Jul 17];16(3):335–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11896536/>
48. Tibaldi E, Brunati AM, Zonta F, Frezzato F, Gattazzo C, Zambello R, et al. Lyn-mediated SHP-1 recruitment to CD5 contributes to resistance to apoptosis of B-cell chronic lymphocytic leukemia cells. *Leukemia* [Internet]. 2011 [cited 2023 Jul 17];25(11):1768–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21701493/>
49. Duan B, Morel L. Role of B-1a cells in autoimmunity. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2006 Jul [cited 2023 Jul 17];5(6):403–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16890894/>
50. Fagiolo E. Immunological tolerance loss vs. erythrocyte self antigens and cytokine network dysregulation in autoimmune hemolytic anaemia. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2004 Feb 29 [cited 2023 Jun 8];3(2):53–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15003188/>
51. Gilsanz F, De La Serna J, Moltó L, Alvarez-Mon M. Hemolytic anemia in chronic large granular lymphocytic leukemia of natural killer cells: cytotoxicity of natural killer cells against autologous red cells is associated with hemolysis. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 1996 [cited 2023 Jun 8];36(5):463–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8693514/>
52. Higashi Y, Turzanski J, Pallis M, Russell NH. In vitro quantification of anti-red blood cell antibody production in idiopathic autoimmune haemolytic anaemia: effect of mitogen and cytokine stimulation. *Br J Haematol* [Internet]. 2000 [cited 2023 Jun 8];111(2):452–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11122084/>
53. Xu L, Zhang T, Liu Z, Li Q, Xu Z, Ren T. Critical role of Th17 cells in development of autoimmune hemolytic anemia. *Exp Hematol* [Internet]. 2012 [cited 2023 Jul 9];40(12). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22960264/>

54. Toriani-Terenzi C, Fagiolo E. IL-10 and the cytokine network in the pathogenesis of human autoimmune hemolytic anemia. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2005 [cited 2023 Jul 9];1051:29–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16126942/>
55. Barcellini W, Zaja F, Zaninoni A, Imperiali FG, Battista ML, Di Bona E, et al. Low-dose rituximab in adult patients with idiopathic autoimmune hemolytic anemia: clinical efficacy and biologic studies. *Blood* [Internet]. 2012 Apr 19 [cited 2023 Jul 9];119(16):3691–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22267606/>
56. McQueen F. A B cell explanation for autoimmune disease: the forbidden clone returns. *Postgrad Med J* [Internet]. 2012 Feb 10 [cited 2023 Jun 8];88(1038):226–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22328279/>
57. Garratty G. Drug-induced immune hemolytic anemia. *Hematology* [Internet]. 2009 Jan 1 [cited 2023 Jun 6];2009(1):73–9. Available from: <https://dx.doi.org/10.1182/asheducation-2009.1.73>
58. Packman CH. The Clinical Pictures of Autoimmune Hemolytic Anemia. *Transfus Med Hemother* [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2023 Jul 16];42(5):317–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26696800/>
59. Barcellini W. Immune Hemolysis: Diagnosis and Treatment Recommendations. *Semin Hematol* [Internet]. 2015 Oct 1 [cited 2023 Jul 5];52(4):304–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26404442/>
60. Eyster ME, Jenkins DE. Erythrocyte coating substances in patients with positive direct antiglobulin reactions. Correlation of gamma-G globulin and complement coating with underlying diseases, overt hemolysis and response to therapy. *Am J Med* [Internet]. 1969 [cited 2023 Jul 5];46(3):360–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5780361/>
61. Hoyer LW, Trabold NC. The significance of erythrocyte antigen site density. I. Hemagglutination. *J Clin Invest*. 1970;49(1):87–95.
62. Worledge SM, Blajchman MA. The Autoimmune Haemolytic Anaemias. *Br J Haematol*. 1972;23:61–9.
63. Evans RS, Bingham M, Turner E. Autoimmune hemolytic disease: observations of serological reactions and disease activity. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 1965 [cited 2023 Jul 5];124(2):422–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5214827/>
64. EVANS RS, BINGHAM M, BOEHNI P. Autoimmune hemolytic disease. Antibody dissociation and activity. *Arch Intern Med* [Internet]. 1961 [cited 2023 Jul 5];108:338–52. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13697601/>
65. Barcellini W. Pitfalls in the diagnosis of autoimmune haemolytic anaemia. *Blood Transfus* [Internet]. 2015 [cited 2023 Jul 6];13(1):3–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25636128/>

66. Higashi Y, Turzanski J, Pallis M, Russell NH. In vitro quantification of anti-red blood cell antibody production in idiopathic autoimmune haemolytic anaemia: effect of mitogen and cytokine stimulation. *Br J Haematol* [Internet]. 2000 [cited 2023 Jul 6];111(2):452–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11122084/>
67. Lin JS, Hao TC, Lyou JY, Chen YJ, Liu HM, Tzeng CH, et al. Clinical application of a flow cytometric direct antiglobulin test. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 2009 Jul [cited 2023 Jul 6];49(7):1335–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19320864/>
68. Fayek MH, Saad AA, Eissa DG, Tawfik LM, Kamal G. Role of gel test and flow cytometry in diagnosis of Coombs' negative autoimmune haemolytic anaemia. *Int J Lab Hematol* [Internet]. 2012 Jun [cited 2023 Jul 6];34(3):311–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22273187/>
69. Zanella A, Barcellini W. Treatment of autoimmune hemolytic anemias. *Haematologica* [Internet]. 2014 Oct 1 [cited 2023 Jul 9];99(10):1547–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25271314/>
70. Michel M, Chanet V, Dechartres A, Morin AS, Piette JC, Cirasino L, et al. The spectrum of Evans syndrome in adults: new insight into the disease based on the analysis of 68 cases. *Blood* [Internet]. 2009 [cited 2023 Jul 9];114(15):3167–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19638626/>
71. Berentsen S, Randen U, Tjønnfjord GE. Cold agglutinin-mediated autoimmune hemolytic anemia. *Hematol Oncol Clin North Am* [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2023 Jul 9];29(3):455–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26043385/>
72. Sokol RJ, Hewitt S, Stamps BK. Autoimmune haemolysis: an 18-year study of 865 cases referred to a regional transfusion centre. *Br Med J (Clin Res Ed)* [Internet]. 1981 Jun 20 [cited 2023 Jul 9];282(6281):2023. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6788179/>
73. Oliveira JB, Bleasing JJ, Dianzani U, Fleisher TA, Jaffe ES, Lenardo MJ, et al. Revised diagnostic criteria and classification for the autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS): report from the 2009 NIH International Workshop. *Blood* [Internet]. 2010 Oct 7 [cited 2023 Jul 16];116(14). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20538792/>
74. Hashimoto C. Autoimmune hemolytic anemia. *Clin Rev Allergy Immunol* [Internet]. 1998 [cited 2023 Jul 16];16(3):285–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9773255/>
75. Jefferies LC. Transfusion Therapy in Autoimmune Hemolytic Anemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1994 Dec 1;8(6):1087–104.
76. Naithani R, Agrawal N, Mahapatra M, Kumar R, Pati HP, Choudhry VP. Autoimmune hemolytic anemia in children. *Pediatr Hematol Oncol* [Internet]. 2007 May [cited 2023 Jul 11];24(4):309–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17613874/>

77. Gupta V, Shukla J, Bhatia BD. Autoimmune hemolytic anemia. *Indian J Pediatr* [Internet]. 2008 May [cited 2023 Jul 11];75(5):451–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18537006/>
78. Mayer B, Yürek S, Kiesewetter H, Salama A. Mixed-type autoimmune hemolytic anemia: Differential diagnosis and a critical review of reported cases. *Transfusion (Paris)*. 2008 Oct;48(10):2229–34.
79. 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* [Internet]. 1997 [cited 2023 Jul 12];98(4):860–2. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9326179/>
80. Özsoylu F. Megadose methylprednisolone for the treatment of patients with Evans syndrome. *Pediatr Hematol Oncol* [Internet]. 2004 Dec [cited 2023 Jul 12];21(8):739–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15739630/>
81. Ahn YS, Harrington WS, Mylvaganam R, Rocha R, Gacchia R, Horstman WJL. Efficacy of danazol in hematologic disorders. *Acta Haematol* [Internet]. 1990 [cited 2023 Jul 12];84(3):122–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2123061/>
82. Barcellini W, Zanella A. Rituximab therapy for autoimmune haematological diseases. *Eur J Intern Med* [Internet]. 2011 [cited 2023 Jul 12];22(3):220–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21570637/>
83. Garvey B. Rituximab in the treatment of autoimmune haematological disorders. *Br J Haematol* [Internet]. 2008 Apr [cited 2023 Jul 12];141(2):149–69. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18318765/>
84. Peñalver FJ, Alvarez-Larrán A, Díez-Martin JL, Gallur L, Jarque I, Caballero D, et al. Rituximab is an effective and safe therapeutic alternative in adults with refractory and severe autoimmune hemolytic anemia. *Ann Hematol* [Internet]. 2010 Nov [cited 2023 Jul 12];89(11):1073–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20526716/>
85. Zecca M, Nobili B, Ramenghi U, Perrotta S, Amendola G, Rosito P, et al. Rituximab for the treatment of refractory autoimmune hemolytic anemia in children. *Blood* [Internet]. 2003 May 15 [cited 2023 Jul 12];101(10):3857–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12531800/>
86. D’Arena G, Laurenti L, Capalbo S, D’Arco AM, De Filippi R, Marcacci G, et al. Rituximab therapy for chronic lymphocytic leukemia-associated autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol* [Internet]. 2006 Aug [cited 2023 Jul 12];81(8):598–602. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16823816/>
87. Zaja F, Vianelli N, Sperotto A, Patriarca F, Tani M, Marin L, et al. Anti-CD20 therapy for chronic lymphocytic leukemia-associated autoimmune diseases. *Leuk Lymphoma* [Internet]. 2003 Nov [cited 2023 Jul 12];44(11):1951–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14738149/>

88. Darabi K, Abdel-Wahab O, Dzik WH. Current usage of intravenous immune globulin and the rationale behind it: the Massachusetts General Hospital data and a review of the literature. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 2006 May [cited 2023 Jul 12];46(5):741–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16686841/>
89. Besa EC. Rapid transient reversal of anemia and long-term effects of maintenance intravenous immunoglobulin for autoimmune hemolytic anemia in patients with lymphoproliferative disorders. *Am J Med* [Internet]. 1988 [cited 2023 Jul 12];84(4):691–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3400663/>
90. Anderson D, Ali K, Blanchette V, Brouwers M, Couban S, Radmoor P, et al. Guidelines on the use of intravenous immune globulin for hematologic conditions. *Transfus Med Rev* [Internet]. 2007 Apr [cited 2023 Jul 12];21(2 Suppl 1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17397769/>
91. McLeod BC, Strauss RG, Ciavarella D, Gilcher RO, Kasprisin DO, Kiproff DD, et al. Management of hematological disorders and cancer. *J Clin Apher* [Internet]. 1993 [cited 2023 Jul 13];8(4):211–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8113208/>
92. Gertz MA. Management of cold haemolytic syndrome. *Br J Haematol* [Internet]. 2007 Aug [cited 2023 Jul 13];138(4):422–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17561970/>
93. Berentsen S, Tjønnfjord GE, Shammass FV, Bergheim J, Hammerstrøm J, Langholm R, et al. No response to cladribine in five patients with chronic cold agglutinin disease. *Eur J Haematol* [Internet]. 2000 [cited 2023 Jul 13];65(1):88–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10914950/>
94. Chandesaris MO, Schleinitz N, Ferrera V, Bernit E, Mazodier K, Gayet S, et al. [Cold agglutinins, clinical presentation and significance; retrospective analysis of 58 patients]. *Rev Med Interne* [Internet]. 2004 Dec [cited 2023 Jul 13];25(12):856–65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15582165/>
95. Olesen H. Chlorambucil Treatment in the Cold Agglutinin Syndrome. *Scand J Haematol*. 1964;1(2):116–28.
96. Schöllkopf C, Kjeldsen L, Bjerrum OW, Mourits-Andersen HT, Nielsen JL, Christensen BE, et al. Rituximab in chronic cold agglutinin disease: a prospective study of 20 patients. *Leuk Lymphoma* [Internet]. 2006 Feb [cited 2023 Jul 13];47(2):253–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16321854/>
97. Berentsen S, Ulvestad E, Gjertsen BT, Hjorth-Hansen H, Langholm R, Knutsen H, et al. Rituximab for primary chronic cold agglutinin disease: a prospective study of 37 courses of therapy in 27 patients. *Blood* [Internet]. 2004 Apr 15 [cited 2023 Jul 13];103(8):2925–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15070665/>
98. Zoppi M, Oppliger R, Althaus U, Nydegger U. Reduction of plasma cold agglutinin titers by means of plasmapheresis to prepare a patient for coronary bypass surgery. In-

- fusionsther Transfusionsmed [Internet]. 1993 [cited 2023 Jul 13];20(1–2):19–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8504237/>
99. Pecsí SA, Almassi GH, Langenstroer P. Deep hypothermic circulatory arrest for a patient with known cold agglutinins. *Ann Thorac Surg* [Internet]. 2009 Oct [cited 2023 Jul 13];88(4):1326–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19766831/>
 100. COOMBS RRA, MOURANT AE, RACE RR. A New Test for the Detection of Weak and “Incomplete” RH Agglutinins. *Br J Exp Pathol* [Internet]. 1945 [cited 2023 Jul 16];26(4):255. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2065689/>
 101. Petz LD. Autoimmune hemolytic anemia. *Hum Pathol* [Internet]. 1983 [cited 2023 Jul 16];14(3):251–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6832772/>
 102. Michel M. Classification and therapeutic approaches in autoimmune hemolytic anemia: an update. *Expert Rev Hematol* [Internet]. 2011 Dec [cited 2023 Jul 16];4(6):607–18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22077525/>