



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**



PRİMER OTOİMMÜN HEMOLİTİK ANEMİLERİN SIKLIĞI: TEK MERKEZ DENEYİMİ

Dr. Nejat Emre ÖKSÜZ

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Meltem KURT YÜKSEL**

**ANKARA
2022**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**PRİMER OTOİMMÜN HEMOLİTİK ANEMİLERİN SIKLIĞI:
TEK MERKEZ DENEYİMİ**

Dr. Nejat Emre ÖKSÜZ

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Meltem KURT YÜKSEL**

**ANKARA
2022**

Ankara Üniversitesi

Tıp Fakóltesi Dekanlığı'na,

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum Primer Otoimmün Hemolitik Anemilerin Sıklığı: Tek Merkez Deneyimi başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımda yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler Ankara Üniversitesi İnsan Araştırmaları Etik Kurulu tarafından 3.08.2021 tarihinde, İ6-426-21 numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Nejat Emre ÖKSÜZ

Tarih: 13.04.2022

İmza:

ÖZGÜNLÜK RAPORU

Primer Otoimmün Hemolitik Anemilerin Sıklığı: Tek Merkez Deneyimi

ORJİNALLİK RAPORU

%8

BENZERLİK ENDEKSİ

%5

İNTERNET KAYNAKLARI

%3

YAYINLAR

%4

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ



Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen:	Nejat Emre Öksüz
Ödev başlığı:	Tıpta Uzmanlık Tezleri
Gönderi Başlığı:	Primer Otoimmün Hemolitik Anemilerin Sıklığı: Tek Merkez D...
Dosya adı:	NEJAT_EMRE_TEZ_29.03.2022_kaynaks_z.docx
Dosya boyutu:	405.98K
Sayfa sayısı:	51
Kelime sayısı:	11,737
Karakter sayısı:	75,692
Gönderim Tarihi:	30-Mar-2022 07:55ÖÖ (UTC+0300)
Gönderim Numarası:	1796704728

KABUL ONAY SAYFASI

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN	
Adı, Soyadı: NEJAT EMRE ÖKSÜZ	Sınav tarihi: 13 /04/ 2022
Anabilim/Bilim Dalı: İÇ HASTALIKLARI	
Tez Danışmanı: MELTEM KURT YÜKSEL	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı: Primer Otoimmün Hemolitik Anemilerin Sıklığı: Tek Merkez Deneyimi	
Tezin Niteliği: ☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi	☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu: ☒ 1	☐ 2 ☐ 3

III. KARAR	
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin “Tıpta Uzmanlık Tezi” olarak	
☒ Kabulüne	
☐ Reddine	
☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine	
☒ Oy birliği	☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

IV. AÇIKLAMALAR	
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız.	

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Meltem KURT YÜKSEL
Hematoloji Bilim dalı

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Pervin TOPÇUOĞLU
Hematoloji Bilim Dalı

Jüri Üyesi

Prof. Dr. İmdat DİLEK
Hematoloji Bilim Dalı

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim sırasında ve tez çalışmalarım döneminde yoğun iş temposu arasında bana ayırdığı değerli vakti, desteği ve yol göstericiliği için, birçok alanda örnek aldığım değerli tez danışmanım Prof. Dr. Meltem KURT YÜKSEL'e,

Tıpta uzmanlık eğitimimde emeği geçen tüm saygıdeğer öğretim üyelerimize,

Tez hazırlama sürecinde, özellikle istatistik alanında desteklerini esirgemeyen, uzmanlık eğitimim sırasında pratik bilgi ve deneyimlerini keyifle paylaşan Uzm. Dr. Serdar SEZER'e,

Asistanlığımın ilk gününden bu yana desteğini asla sakınmayan, keyifli bir çalışma dönemi geçirmemi sağlayan başta sevgili eşim Dr. SİNEM BAŞAK TAN ÖKSÜZ olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma,

Her zaman desteklerini ve bana olan inançlarını yanımda hissettiğim sevgili aileme,

Teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Nejat Emre ÖKSÜZ

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	i
Özgünlük Raporu	ii
Kabul Onay Sayfası	iii
Önsöz	iv
İçindekiler	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller Dizini	viii
Tablolar Dizini	ix

1. TÜRKÇE ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	6
4.1. Otoimmün Hemolitik Anemi	6
4.1.1. Sıcak Tip Otoimmün Hemolitik Anemi ve İnsidansı	6
4.1.2. Soğuk Aglütinin Hastalığı ve İnsidansı	7
4.1.3. Paroksizmal Soğuk Hemoglobinüri	8
4.1.4. Miks ve Atipik Otoimmün Hemolitik Anemi	8
4.2. Evans Sendromu	9
4.3. Otoimmün Hemolitik Anemi ve Tromboz İlişkisi	9
4.4. Tanı ve Laboratuvar Bulguları	9
4.4.1. Antiglobülin Testi	9
4.4.2. Soğuk Aglütinin Testi	10
4.4.3. Periferik Yayma, Retikülosit Sayısı ve Hemolitik Belirteçler	11
4.5. Tedavi	11
4.5.1. Sıcak Tip OİHA Tedavisi	12
4.5.2. Soğuk Tip Otoimmün Hemolitik Anemi	14
5. GEREÇ ve YÖNTEM	16
5.1. Çalışma Protokolü ve Hasta Belirlenmesi	16
5.1.1. DAT değerlendirmesi ve Primer OİHA'nın sınıflandırılması	16
5.1.2. Yanıtların Değerlendirilmesi	17
5.1.3. Tromboembolik Olay Değerlendirilmesi	17

5.2. İstatistiksel Analiz İstatistiksel Yöntem	17
6. BULGULAR	19
6.1. Hastaların Tanımlayıcı Özellikleri	19
6.2. Hastaların Tanı Anındaki Klinik ve Laboratuvar Özellikleri	20
6.3. Hastaların Tedavi Özellikleri	22
6.4. Hastaların Serolojik Tiplerine Göre Tedavi Yanıtları	25
6.5. Tedavi Yanıtlarına Göre Relapsın Değerlendirmesi	27
6.6. OİHA Hastalarında Tromboembolik Olay	29
7. TARTIŞMA	34
8. SONUÇ ve ÖNERİLER	39
9. KAYNAKLAR	40



SİMGELER VE KISALTMALAR

OİHA	: Otoimmün hemolitik anemiler
AÜTF	: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
CAA	: Çeyrekler arası açıklık
TY	: Tam Yanıt
PY	: Parsiyel Yanıt
SAH	: Soğuk Aglütinin Hastalığı
TE	: Tromboembolik Olay
ASKH	: Aterosklerotik Kalp Hastalığı
HO	: Hazard oranı
GA	: Güven aralığı
AIHA	: Autoimmune hemolytic anemia
CAD	: Cold agglutinin disease
CR	: Complete response
PR	: Partial response
IQR	: İnterquartile range
HR	: Hazard ratio
ASCH	: Atherosclerotic cardiovascular disease
DAT	: Direkt aglütinin hastalığı
Ig	: İmmunglobulin
SA	: Soğuk aglütinin
PSH	: Paroksizmal Soğuk Hemoglobinüri
DL	: Donath-Landsteiner
ES	: Evans Sendromu
IAT	: İndirek anti globülin testi
TA	: termal aralığı
ITP	: idiopatik trombositopenik purpura
SD	: Steroid direnci
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 6.1. Çalışmaya dahil edilen otoimmün hemolitik anemi tanılı hastaların serolojik alt tiplerine göre dağılımı.....	19
---	----



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1.	OİHA'lerin serolojik tipleri.....	6
Tablo 6.1.	Hastaların serolojik tiplerine göre tanımlayıcı özellikleri	20
Tablo 6.2.	Hastaların serolojik tiplerine göre tanı anındaki laboratuvar ve klinik özellikleri.....	22
Tablo 6.3.	Hastaların serolojik tiplerine göre aldıkları tedavilerin karşılaştırması.....	23
Tablo 6.4.	Sıcak tip otoimmün hemolitik anemi hastalarının tedavilerinin tedavi sırasına göre gruplandırılması	24
Tablo 6.5.	Soğuk aglütinin hastalarının tedavilerinin tedavi sırasına göre gruplandırılması.....	24
Tablo 6.6.	Hastaların serolojik tiplerine göre farklı tedavilere yanıt oranları	26
Tablo 6.7.	Hastaların serolojik tiplerine göre farklı tedavilerin tam yanıt ve parsiyel yanıt kadar geçen süreler	27
Tablo 6.8.	Tedavi yanıtı olan hastaların yanıt türüne göre relaps oranlarının karşılaştırılması.....	28
Tablo 6.9.	Hastaların serolojik tiplerine göre tedavi yanıtı sonrası relapsa kadar geçen süre	29
Tablo 6.10.	Tromboembolik olay gelişen OİHA hastaların tanımlayıcı özellikleri	30
Tablo 6.11.	Tromboembolik olay gelişen OİHA hastaların tanı anındaki laboratuvar ve klinik özellikleri.....	32
Tablo 6.12.	Tromboembolik olay gelişen OİHA hastaların çok değişkenli analizi.....	33

1. TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Otoimmün hemolitik anemiler (OİHA)'ler nadir görülen ağır seyredabilen bir anemi türüdür. Primer OİHA hastalarının belirlenmesi, serolojik türlere göre sınıflandırılması, aldıkları tedaviler, tedavi yanıtları ve yanıt süreleri, relaps oranları ve primer OİHA hastalarındaki tromboz oranları ve trombozu öngörme ile ilişkili faktörlerin araştırılması amaçlanmıştır. Ek olarak Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi (AÜTF) Hematoloji Bilim Dalı (BD)'na ait primer OİHA'lerin 10 yıllık verisinin elde edilmesi planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışma, tek merkezli, retrospektif kohort çalışmasıdır. Ocak 2010-Aralık 2020 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalında primer OİHA tanısı ile takip edilen 103 hastanın incelemesi yapılmıştır. Hastaların OİHA'lerin serolojik tipleri, tanı anındaki laboratuvar ve klinik özellikleri, uygulanan tedaviler, tedavi yanıtları, tedavi yanıtına kadar geçen süre, relaps ve yanıtta relapsa kadar geçen süreler incelenmiştir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak incelenmiştir.

Bulgular: Hastaların 89'unun (%86,4) sıcak tip OİHA, 11'inin soğuk aglütinin hastalığı (SAH) (%10,7), 3'ünün atipik OİHA (%2,9) serolojik alt tipinde olduğu saptanmıştır. Hastaların ortalama takip süresi 11 ay (ÇAA:2,1-31,5) olduğu görülmüştür. Hastaların hemoglobin değeri sıcak tip OİHA hastalarında 8,1 mg/dl (ÇAA: 6,5-9,6), SAH hastalarında 8,6 mg/dl (ÇAA: 7,5-10,4), atipik OİHA hastalarında 9,2 mg/dl olarak saptanmıştır. Hastaların serolojik tiplerine göre hemoglobin değeri 10 g/dl altında olanların yüzdesi, sıcak tip OİHA hastalarının %83,1, SAH'da ise %54,5 olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (**p=0,04**). Steroid tedavisi alan sıcak tip OİHA hastalarında TY %37, PY %28,4 iken SAH hastalarında TY %37,5 PY %37,5 olduğu görülmüştür. Rituksimab tedavisinin yanıt oranları; sıcak tip OİHA hastalarında TY %43,5, PY %30,4 iken SAH'larında TY %50, PY %16,7 olduğu izlenmiştir. Splenektomi tedavisinin sıcak tip OİHA hastalarında yanıt oranları TY %50, PY %16,7 olarak görülmüştür. Mikofenolat mofetil tedavisi alan hastalarda TY %52,4, PY %4,8 olarak izlenmiştir. Relaps oranları değerlendirildiğinde steroid tedavisine PY olan hastaların %57,7, TY olan hastaların %33,3'ünde relaps olduğu bulunmuştur. Sıcak tip OİHA hastalarında steroid ile yanıt sağlandıktan sonra relapsa kadar geçen ortalama süre 55 gün (ÇAA:30-134), SAH hastalarında bu süre 120 gün (ÇAA:52,5-543) olarak izlenmiştir. Steroid tedavi sonrası tam yanıt olan takibinde nüks olmayan hasta sayısı 24 (%26) olarak bulunmuştur. Rituksimab ile PY olan hastaların %50'si, TY olan hastaların %30,8'inde relaps görülmüştür. Sıcak tip OİHA hastalarında rituksimab ile yanıt sağlandıktan sonra relapsa kadar geçen ortalama süre 134,5 gün (ÇAA:22-282,5) olarak izlenmiştir. Tromboembolik (TE) olay yaşayan hastaların sayısı 12 (%11) olarak saptanmıştır. İstatistiksel olarak iki grup arasında fark

izlenmemiştir (p=0,65). Çok değişkenli analiz ile, TE olay gelişimini etkileyebilecek faktörlere bakıldığında komorbid hastalık olarak aterosklerotik kalp hastalığı (ASKH) olması (HO=4,53, %95 GA:1,21-16,99, p=0,025) ve hastane yatışı olan hastalarda (HO=6,25, %95 GA:1,21-16,99, p=0,024) TE gelişmesi açısından bağımsız bir risk faktörü olarak bulunmuştur.

Sonuç: Hastalarımız arasında, sıcak tip OİHA hastaları SAH'a göre daha yüksek oranda seyretmektedir. Hafif klinik başlangıçlı hasta oranı SAH'da daha yüksektir. Klinik pratikte tüm hastaların başlangıçta tedavi verildiği görülmüştür. Neredeyse tüm hastalar steroid tedavisi almış olsada, tam yanıt olan takibinde nüks olmayan hasta sayısı 24 (%26) olarak izlenmiştir. OİHA hastaların çoğu ikinci sıra tedavilere ihtiyaç duymaktadır. İkinci sıra tedavilerde en çok öne çıkan tedavi rituksimabtır. OİHA tanısı alan hastalar, TE olay açısından artmış risk faktörüdür. Özellikle hospitalizasyon ve ASKH'ın OİHA hastalarında TE olay gelişimi için bağımsız bir risk faktörüdür. Riskli durumlarda OİHA hastalarında profilaksi açısından değerlendirilebilir.

Anahtar Kelimeler: Otoimmün Hemolitik Anemi, Soğuk Aglütinin Hastalığı, Tromboz

2. ABSTRACT

Introduction: AIHAs are a rare type of anemia that can progress severely. In this study we aimed to identify primary AIHA patients, classify them according to serological types, evaluate the treatments they receive, treatment responses and response times, relapse rates, thrombosis rates in primary AIHA patients, and the factors associated with predicting thrombosis. In addition, it is planned to obtain 10-year data on primary AIHAs belonging to the AUTF Hematology Department.

Materials and Methods: This is a single-center, retrospective cohort study. Between January 2010 and December 2020, 103 patients who were followed up with the diagnosis of primary AIHA in the Department of Hematology, Faculty of Medicine, Ankara University were included. Serological types of AIHAs, laboratory and clinical features at the time of diagnosis, treatments applied, treatment responses, time to treatment response, relapse and times from response to relapse were collected. The obtained data were analyzed statistically.

Results: It was determined that 89 (86.4%) of his patients were in the warm AIHA, 11 (10.7%) were in the serological subtype of CAD, and 3 of them (2.9%) were in the atypical AIHA subtype. The number of patients who needed hospitalization at least once during the follow-up period was 52 (50.5%). The median follow-up period was 11 months (IQR: 2.1-31.5). 5 of the patients (4.9%) died during the follow-up, they were diagnosed with warm AIHA. Hemoglobin values of the patients were 8.1 mg/dl (IQR: 6.5-9.6) in patients with warm AIHA, 8.6 mg/dl (IQR: 7.5-10.4) in patients with CAD, and 9 in patients with atypical AIHA. It was found to be 2 mg/dl. The percentage of patients with a hemoglobin value below 10 g/dl was 83.1% in warm AIHA patients and 54.5% in CAD patients and a statistically significant difference was found ($p=0.04$). While CR was 37% and PR 28.4% in warm AIHA patients who received steroid treatment, both CR and PR was 37.5% in SAH patients. Considering the response rates of rituximab, CR was 43.5% and PR was 30.4% in patients with warm AIHA, CR was 50% and PR was 16.7% in CAD patients. The responses rate of splenectomy treatment in patients with warm AIHA were 50% CR and 16.7% PR. In patients who received mycophenolate mofetil treatment, CR was 52.4%, and PR was 4.8%. When the relapse rates were evaluated, 57.7% of the patients with PR and 33.3% of the patients with CR were relapsed after steroid treatment. The median time to relapse after response with steroids was 55 days (IQR:30-134) in warm AIHA patients, and 120 days (IQR:52.5-543) in CAD patients. The number of patients who did not relapse in the follow-up with complete response after steroid treatment was observed as 24 (26%). Relapse was seen in 50% of patients with PR and in 30.8%

of patients with TR with rituximab. The number of patients who experienced thromboembolic events was 12 (11%). There was no statistical difference between the two groups ($p=0.65$). In the multivariate ASCH as comorbid disease ($HR=4.53$, 95% CI:1.21-16.99, $p=0.025$) and hospitalization ($HR=6.25$), 95% CI: 1.21-16.99, $p=0.024$) was found to be independent risk factors for the development of TE.

Conclusion: The number of patients with warm AIHA was higher than patients with CAD. The percentages of patients with mild clinical onset is higher in CAD. It has been observed in clinical practice that all patients were initially treated regardless of their Hb value. Although almost all patients received steroid treatment, the number of patients who did not relapse was only 24 (26%). Patients need second-line treatments because of lack of response or relapse after initial treatment. The most common second line treatment is rituximab. AIHA itself is an increased risk factor for TE events. Independent risk factors for TE development in AIHA patients were hospitalization and ASCH. It can be evaluated in terms of prophylaxis in AIHA patients in risky situations.

Keywords: Autoimmune Hemolytic Anemia, Cold Agglutinin Disease, Thrombosis

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Otoimmün hemolitik anemi (OİHA), nadir görülen heterojen bir grup hastalıktır ve OİHA'nın tedavisi hastaların bireysel özellikleri ve hastalığın patofizyolojik mekanizmaları göz önüne alınarak düzenlenmelidir. Her bir OİHA vakasının serolojik tipinin belirlenmesi ve OİHA'ya yol açabilecek altta yatan olası bir hastalığın araştırılması çok önemlidir.

OİHA'ya neden olabilecek altta yatan bir hastalık bulunamadığı durumlarda primer OİHA olarak değerlendirilir. Lenfoproliferatif maligniteler, otoimmün ve enfektif hastalıklar, immün yetmezlikler, ilaçlar, solid tümörler ve organ nakli dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkili OİHA ise sekonder OİHA olarak tanımlanır. OİHA vakalarının %50'si primer olarak gelişirken, %20'si lenfoproliferatif sendromlarla, %20'si otoimmün hastalıklara geriye kalan enfeksiyon ve tümörlere sekonder oluşmaktadır (1).

OİHA'lar serolojik özelliğine göre ise genellikle sıcak tip OİHA ve soğuk tip OİHA olarak sınıflandırılır. OİHA'ların %48-70 sıcak tip OİHA, %15-25'i soğuk tip OİHA'den oluşur. Geriye kalanlar miks ve atipik gruptur. Tüm tipler akut, geçici veya kronik olabilir (2). Hastaların serolojik olarak sınıflandırılması tedavi ve prognoz açısından farklılıklar olduğu için oldukça önemlidir.

Bu çalışmada, AÜTF Hematoloji BD'da 2010-2020 yılları arasında takip edilen primer OİHA hastalarının belirlenmesi, serolojik türlere göre sınıflandırılması, aldıkları tedaviler, tedavi yanıtları ve yanıt süreleri, relaps oranları ve primer OİHA hastalarındaki tromboz oranları ve trombozu öngörme ile ilişkili faktörlerin araştırılması, böylelikle nadir bir hastalık olan OİHA ile ilgili literatüre katkı sağlanması amaçlanmaktadır. Ek olarak AÜTF Hematoloji BD'na ait primer OİHA'ların 10 yıllık verisinin elde edilmesi planlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Otoimmün Hemolitik Anemi

OİHA; kompleman aktivasyonu veya kompleman aktivasyonu olmaksızın gelişen, eritrositlere ve eritrosit öncüllerine karşı oluşmuş otoantikörlerin meydana getirdiği kazanılmış dekompanse bir hemoliz tablosudur. OİHA varlığı düşünülen durumlarda direk anti globülin testi (DAT) sonuçları tanıya yardımcı olmanın yanında immün hemolitik anemi tipini sınıflandırmada da oldukça faydalıdır. OİHA otoantikörün termal aralığına göre sıcak tip, soğuk tip, miks tip ve nadiren görülen paroksizmal soğuk tip hemoglobinüri şeklinde sınıflandırılmaktadır (1, 3).

Tablo 4.1. OİHA'lerin serolojik tipleri

Serolojik Tipleri	Mekanizma	DAT	Eritrosit Elüsyon	Spesifite
Sıcak Tip OİHA	Ig G (Ig A)	Ig G, +/- C3	Ig G	Panreaktif
SAH	Ig M	C3	Non reaktif	I > i > Pr
Miks tip OİHA	Ig G, Ig M	Ig G + C3	Ig G	Panreaktif I/i reaktif
PSH	Ig G	C3	Non reaktif	p

*Bu tablo 2020'de yayınlanan Jäger ve arkadaşlarının yayınladığı uluslararası, ilk uzlaş toplantısında yayınlanan derlemeden uyarlanmıştır.

Kısaltmalar: OİHA: otoimmün hemolitik anemi, SAH: soğuk aglütinin hastalığı, PSH: paroksizmal soğuk hemoglobinüri, Ig: İmmünglobülin

4.1.1. Sıcak Tip Otoimmün Hemolitik Anemi ve İnsidansı

OİHA ile ilgili Danimarka'da, ülke çapında yapılan epidemiyolojik çalışmada sıcak tip OİHA'lerin 1980-1993, 1994-2007 ve 2008-2016 yılları arasında insidanslara bakıldığında sırasıyla 100.000'de 0,81, 1,43 ve 1,77 olarak görülmüştür (4).

Sıcak tip OİHA genellikle immünglobulin (Ig) G'ye bağlı olmakla beraber nadiren Ig M veya Ig A bağlı görülebilir. Bazen de aynı anda birden fazla immünglobulin sınıfı (örneğin; Ig G ve Ig M/C3) birlikte bulunabilir (5). Sıcak tip OİHA antikörlerin poliklonal olduğu gösterilmiştir (3).

Sıcak tip OİHA patofizyolojisinde eritrosit yıkımındaki temel mekanizma dalak ve diğer lenfoid organlarda antikör bağımlı hücrel sitotoksikite yoluyla meydana gelen ekstrasvasküler hemolizdir. Yapılan çalışmalarda sıcak tip OİHA'lerin yarısında klasik kompleman yolu

aktivasyonu görülmüştür. IgG1 ve IgG3 alt tipleri yüksek titrede bulunduğunda kompleman aktivasyonu eşlik edebilir (1, 6). Bunlara ek olarak CD4+ T hücreler, regülatör T hücreler, makrofajlar ve kemik iliğinin hemolizi kompanse etme yeteneği patofizyolojik mekanizmalar arasındadır. Tüm bu faktörlerin karmaşık etkileşimleri ve zaman içindeki değişimleri OİHA'nın klinik heterojenliği ve öngörülemez seyrinde sorumlu tutulmaktadır (7).

OİHA'lerin kliniği kısmi olarak kompanse edilebilen anemiden ani başlangıçlı hayatı tehdit edecek derecedeki anemilere kadar geniş bir spektrumda görülebilmektedir. Klinik heterojenliğin ana belirleyicileri, otoantikor sınıfı ilişkili olarak hemoliz tipi (intravasküler ve/veya ekstrasvasküler), termal genlik, kompleman aktivasyonu ve hemolize kemik iliği yanıtıdır (1).

4.1.2. Soğuk Aglütinin Hastalığı ve İnsidansı

SAH, genellikle 50 yaşından sonra görülmektedir. Hastalığın insidansının dış ortam sıcaklığı ve iklime bağlı olarak değişebildiği gösterilmiştir. Danimarka ve Norveç gibi Kuzey Avrupa ülkelerinde insidans sırasıyla 100.000'de 18 ve 19 olarak kaydedilmiştir. İtalya'nın Lombardiya bölgesindeki insidans ise nüfustaki yaşlı oranı daha yüksek olmasına rağmen 100.000'de 4,8 olarak izlenmiştir. Mevsimsel değişiklikler ile görülen soğukla artan semptomların tanı sürecini başlatmada faydalı olduğunu regresyon analizleri ile gösterilmiştir. Bununla birlikte, kronik SAH ile takipte olan hastalarda çeşitli tetikleyici nedenler (soğuk ile temas, enfeksiyonlar vb.) varlığında sıcak mevsimlerde de atak izlenebilir. (8).

SAH, kemik iliğininde iyi tanımlanmış klonal düşük dereceli lenfoproliferatif bozukluğunun, klasik kompleman yolunun aracılık ettiği, eritrosit yıkımı ile sonuçlanan nadir bir OİHA alt tipidir (2, 9, 10).

OİHA hastalarında, DAT sonucu C3 pozitif ve IgG negatif olarak geldiğinde soğuk tip OİHA düşünülmelidir. Soğuk tip OİHA'de antikorlar, genellikle I/i antijenlerine özgül olan IgM olmakla beraber, nadir olarak Pr antijenlerine özgül olan Ig G veya Ig A olabilir (5).

Soğuk reaktif antikorların, antijene bağlanabilmesi için optimum sıcaklık 0 °C ile 4 °C derece arasındadır, ancak daha yüksek sıcaklıklarda da antikorlar reaksiyona girebilir. Eritrositleri aglütine eden soğuk antikorlar, Soğuk Aglütinin (SA) olarak tanımlanır. Termal genlik, aglütinasyonun gösterildiği en yüksek sıcaklıktır ve SA'ların termal genlik 28-30 °C derecelerde patolojiktir (10, 11).

Soğuk havalarda artan hemolize bağlı olarak Raynaud benzeri semptomlar, akrosiyanoz, koyu renkli idrar gibi semptomlar ortaya çıkabilir, var olan semptomlar kötüleşebilir. Bu nedenle birincil profilaksi, düşük sıcaklıklara maruziyetinden kaçınmaktır (8).

Yakın zamanlı yapılan çalışmalar, SAH tanısı almış olan hastaların, tanı alması zor olabilen klonal lenfoproliferatif kemik iliği hastalığına sahip olabileceğini göstermiştir (12). SAH ve lenfoplazmositik lenfoma patolojik olarak karışabilmektedir. Soğuk aglütinin ilişkili lenfoproliferatif hastalık özgün homojen histolojik ve immünofenotipik özellikler göstermektedir. Plazmasitoid hücrelerin yokluğu, ağırlıklı olarak nodüler lenfoid infiltratların dışında plazma hücrelerinin varlığı, IGHV 4-34 ağır zincir geninin seçici kullanımı ve MYD88 L265P mutasyonunun olmaması, soğuk aglütinin ile ilişkili lenfoproliferatif hastalığın, lenfoplazmositik lenfomadan farklı bir tanı olduğunu kuvvetle göstermektedir (13).

4.1.3. Paroksizmal Soğuk Hemoglobinüri

Paroksizmal Soğuk Hemoglobinüri (PSH), günümüzde oldukça nadir olarak özellikle çocukluk çağında viral enfeksiyonlardan veya aşılarından sonra geçici olarak görülmektedir. PSH olan hastalarda Donath-Landsteiner (DL) olarak adlandırılan P antijenlerine spesifik bifazik antikor mevcuttur. DL, düşük sıcaklıklarda komplemanı eritrosite bağlayan, daha sonra yüksek sıcaklıklarda kompleman ile opsonizasyon sayesinde hemoliz oluşturan IgG sınıfı bir antikordur (5).

4.1.4. Miks ve Atipik Otoimmün Hemolitik Anemi

Miks tip OİHA, sıcak otoantikor ile yüksek titrede SA'lerin bir arada bulunduğu klinik tablodur. Tüm OİHA'lerin %8-10'unu temsil ederler. SA'lar SAH'a göre daha geniş termal genlik (>30 °C) sergilemektedir (5). Bu vakalar sıcak tip OİHA'ya göre daha kötü prognoz ve daha düşük hemoglobin seviyeleri ile seyretmektedir. İlk sıra tedavilere çoğunlukla yanıtıdır; ikinci sıra veya daha fazla sayıda tedaviye ihtiyaç duyulur (1).

OİHA olarak değerlendirilen hastaların %5-10'luk kesiminde DAT negatif, IgA ilişkili, sıcak IgM ilişkili OİHA'lar atipik olarak değerlendirilir, bu grup atipik OİHA olarak adlandırılır (1). DAT negatifliğine 3 farklı mekanizmanın yol açtığı düşünülmektedir. Bunlar; eritrosit membranına bağlı olan IgG antikorlarının yoğunluğunun ölçülebilir düzeyin altında olması, sıcak tip OİHA'nın Ig A veya Ig M ile gerçekleşmesi veya otoantikorların düşük afiniteli olmalarıdır (14).

4.2. Evans Sendromu

Otoimmün hemolitik anemi (OIHA) ve idiopatik trombositopenik purpura (ITP) birlikte veya ardışık olarak ortaya görülebilir. İlk olarak 1951 yılında Evans tarafından Evans sendromu (ES) olarak tanımlanmıştır. Erişkinlerde ES'nin bir parçası olarak %15 oranında otoimmün nötropeni de görülebilir (15). ES'da derin anemi varlığı relaps ve yüksek mortalite ile ilişkilidir (16).

4.3. Otoimmün Hemolitik Anemi ve Tromboz İlişkisi

OİHA, tromboemolik olaylar için giderek daha güçlü bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Çeşitli çalışmalarda, OİHA'lı hastalarda yapılan venöz tromboz prevalansı %0-%27 arasında raporlanmıştır (17). Son çalışmalar, soğuk aglütinin hastalığı olan hastalarda da genel popülasyonla karşılaştırıldığında etkilenen hastalar için 1,7 ila 2,4'lük nispi bir riskle, tromboz oluşumunun arttığını göstermektedir (12).

4.4. Tanı ve Laboratuvar Bulguları

4.4.1. Antiglobülin Testi

Antiglobulin testi, anti-human globülini kullanarak yenidoğanın hemolitik hastalığında eritrositlerin in vivo sensitizasyonunu gösteren bir yöntem olarak ilk defa 1945 yılında Robin Coombs tarafından yayınlanmıştır (18). Bu test, görünür bir aglütinasyon reaksiyonu oluşturmak için anti-human globülini kullanılarak eritrosit zarlarına bağlı antikor veya kompleman varlığını gösteren bir yöntemdir. Direkt ve indirek olmak üzere iki formu vardır. İndirek anti globülin testi (IAT), hastanın plazmasında dolaşan antikorları test ederken, DAT ise antikorlar veya kompleman doğrudan hastanın eritrositlerine bağlı olup in vivo duyarlılaşmayı gösterir (14).

DAT'inde 3 farklı reaktif türü vardır. Bunlardan ikisi monospesifik olarak Ig G'yi veya kompleman 3'ü (C3) tespit eden diğeri ise polispsifik olarak aynı anda IgG ve/veya C3'ü tespit edebilen reaktiflerdir. Birçok laboratuvar tarama amacıyla polispsifik reaktif kullanmayı seçer. Eğer pozitif ise sonrasında eritrosit yüzeyine bağlı antikor belirlmek için monospesifik reaktif kullanılır.

DAT için alınan kan örneği, etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ile antikoagüle edilir. EDTA, kalsiyum (C3 aktivatörü) şelasyonu için gereklidir, bu sayede in vitro ortamda C3 aktivasyonu oluşmaz. DAT'ın klasik tüp testi ile yapılan yönteminde, test edilecek eritrositler, serumda bulunan anti-human globülin ile bağlanmayı etkileyebilecek bağlanmamış durumda

olan IgG'yi veya komplemanı çıkarmak için salin ile yıkanmalıdır. Yıkama sonrasında eritrositlere bağlı antikorların ayrılma olanağı bulmadan önce mümkün olan en kısa sürede teste geçmek önemlidir. Eritrositlerin yetersiz yıkanması ve testin gecikmesi yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Yıkanmış eritrositlere polispesifik reaktifin eklenmesinden sonra, eritrositler santrifüjlenir. Test tüpleri aglütinasyondan sonra değerlendirilirken görsel olarak derecesine göre 0'dan +4'e kadar derecelendirilir (19).

Mikro kolon ve katı faz testleri, tüp testine alternatif olarak genellikle çoğu laboratuvarında günümüzde kullanılmaktadır. Mikro kolon yöntemi "jel" yöntemi olarak da bilinmektedir. Jel yönteminde, antikor bağlı eritrositleri yakalayan anti-human globülin reaktifi içeren bir dekstran akrilamid kolonu kullanılır. Hastanın eritrositleri kolona eklendikten sonra santrifüj edilir. Reaksiyon veren eritrositlerin oluşturduğu bandın kolondaki konumuna göre 0'dan +4'e kadar derecelendirilir (20). Avantajları daha küçük hacimli test numunesi gerekmesi ve sonucun uzun ömürlü olması, çalıştırdıktan sonra 24 saate kadar okunmasına olanak tanınmasıdır.

Katı faz yönteminde hastanın eritrositleri mikrotitre plakasına bağlanır ve ardından Anti-IgG kaplı indikatör hücreler eklenir. Santrifüj sonrasında bir nokta şekli negatif reaksiyonu gösterirken eritrositlerin bir çizgi şeklini göstermesi pozitif reaksiyon olarak tanımlanır. Klasik olarak 0'dan +4'e kadar derecelendirilir (20). Jel ve katı faz yöntemlerinin, otomatikleştirilebilir olması ve teknik olarak daha kolay uygulanabilmeleri avantajlı yönleridir. Bununla beraber tüp testinden daha fazla duyarlılığa sahip oldukları gösterilmiştir. Bu artan duyarlılık klinik olarak önemsiz olan zayıf pozitif DAT sonuçlarına yol açabilmektedir.

4.4.2. Soğuk Aglütinin Testi

SAH tanısı için, SA birçok çalışmada antijene bağlanabilmesi için optimum sıcaklık 0 °C ile 4 °C derece arasında tanımlanmıştır. SA titresi, antikorum gücünü (konsantrasyon ve avidite) yansıtır. Titre, eritrositleri aglütine etme yetenekleri açısından hasta serumunun seri dilüsyonlarının test edilmesiyle belirlenir ve bu değer eritrositlerin soğuğa bağlı aglütinasyonların meydana geldiği en yüksek seyreltme değerinin tersidir. SAH'da soğuk aglütinin titreleri oldukça yüksektir. Tanı için kabul edilen sınır 64 olmakla birlikte bazı uzmanlar, 512'nin üzerindeki bir titreyi klinik olarak anlamlı kabul etmektedir (21). Düşük titreler klinik olarak anlamlı değildir. Bir çalışmada sağlıklı kan donörlerinin güven aralığı (GA) %95'de SA titresi 2-8 olduğu gösterilmiştir (22). SA termal aralığı (TA), antikorum eritrosite bağlanacağı sıcaklık aralığını yansıtır. Termal genlik antikorum antijeni bağlayacağı en yüksek sıcaklıktır. Klinik olarak patolojik SA'ların çoğu, 28 C ile 30 C'yi aşan bir termal

genliğe sahiptir (23). TA, klinik belirtiler için titreden daha önemlidir ancak laboratuvarında ölçülmesi daha zordur (24). Bu yüzden klinik önemi belirlemek için ilk değerlendirmede bir kez TA hesaplanır, ancak tedaviyi yönlendirmede kullanılmaz. Kardiyak cerrahi planlanan SAH hastalarında TA hesaplanması önemlidir, sonuca göre hastanın vücut ısısı TA'nın üzerinde tutulabilir.

4.4.3. Periferik Yayma, Retikülosit Sayısı ve Hemolitik Belirteçler

Hemolizi olan hastanın periferik yaymasında genellikle polikromazi, anizositozu (retikülositoz belirtileri) ve sferositleri ortaya çıkaracaktır. Sferositler yaygın olarak sıcak tip OİHA, eritrosit kümeleri ise SAH'da görülür. Trombotik mikroangiopatilerin dışlanması için periferik yayma mutlaka değerlendirilmelidir (2).

Retikülosit sayısı, kemik iliği yanıtının bir değerlendirmesidir. Genellikle başvuru sırasında yükselirler, ancak hastaların %37'sine kadarında tanı anında düşük retikülosit sayısı varlığını bildiren çalışmalar vardır (25). Genel olarak, azalmış bir retikülosit yanıtı, yetersiz kemik iliği kapasitesinin (örn., kemoterapiden sonra, miyelofitizis) veya enfeksiyonun (örn., parvovirüs B19 enfeksiyonu) işareti olabilir. Bununla birlikte, retikülositopeni ile seyreden bazı OİHA hastalarında, otoantikörler olgun eritrositlerin yanı sıra olgunlaşmamış eritrosit öncülleri ve retikülositlerdeki antijenlere bağlanabildiği gösterilmiştir (26). Hemoliz durumunda, haptoglobin seviyesi azalır. Haptoglobin esas olarak karaciğerde üretilir ve heme bağlanarak serbest hemoglobin temizleyicisi olarak görev görür (27). Haptoglobin seviyesinin düşük görüldüğü diğer durumlar; karaciğer hastalığı, önceki transfüzyon tedavisi öyküsü, aşırı egzersiz ve beyazlarda 1/100'i, Afroamerikalıların %4'ünü etkileyen genetik bir hastalık olan ahaptoglobinemide gözlenir (28). Laktat dehidrogenaz özellikle intravasküler hemolizde, unkonjuge bilirubin ise ekstrasvasküler hemolizde yükselir. Bu değerler hemoliz için spesifik değildir, birçok durumda görülebilir (29). Hemoglobinuri sadece şiddetli hemolizi olan hastalarda görülür ve hemosiderinüri subakut veya kronik hemoliz belirtisidir.

4.5. Tedavi

OİHA hastalarında, tedavi için temel endikasyon semptomatik anemidir. Hastalığın başlangıcı akut ve şiddetli olabilmektedir; OİHA hastalarında spontan remisyon nadirdir (30). Hemoglobin değeri 10g/dl üzerinde hafif olarak seyreden hastalarda bireysel olarak semptomları, kırılgenlikleri ve komorbiditeleri değerlendirilerek "bekle ve izle" stratejisini izlenmesi 2020 yılında yayınlanan konsensus raporunda önerilmiştir (30).

4.5.1. Sıcak Tip OİHA Tedavisi

Sıcak tip OİHA’de ilk tedavi olarak günümüzde hala günlük 60 ila 100 mg veya kilograma 1 mg olacak dozda prednizolon önerilmektedir (2, 31). İlk 2-3 haftada yanıt alınan hastalarda doz azaltmaya başlanmalıdır; yanıt gözlenmezse prednizolon kesilmelidir. Yanıt alınan hastalarda ilk 3-6 ay sonrasında günlük tedavi dozu 7,5mg-10 mg’a düşüldükten sonra klinik olarak anlamlı nüks gözlenmezse ilaç kesilene kadar doz azaltılabilir (32). Hastaların yaklaşık olarak %80’i bu tedaviye yanıt verir. Ancak bir yılın sonunda sadece %30 ila %40’ında kalıcı bir yanıtı sahiptir (30). Steroid tedavisine yanıt süresi net olarak gösterilememiştir. Yapılan bir çalışmada günde 1-2 mg/kg prednizolon dozu alan 53 hastanın sadece yarısında 21 günde yanıt izlendiği ve yanıtı kadar geçen ortalama süre 25+-15 gün olduğu gösterilmiştir (33).

Rituksimab tedavisi OİHA için özel olarak onay almış bir tedavi olmasa da, 2020 yılında yapılan uzlaş toplantısı sonucunda ciddi anemi (Hb <8gr/dl) ile gelen ve yüksek relaps riski olan hastalarda başlangıç tedavisi olarak prednizolonun yanına eklenebileceği önerilmiştir (2). Atipik OİHA (IgA aracılı, mikst veya DAT negatif vakalar) ve Evans sendromu da düşük hemoglobin ve yüksek relaps ile ilişkili olduğu için bu bağlamda ciddi hastalık olarak kabul edilir (2).

Rituksimab tedavisinin ilk basamak tedaviye eklenmesinin tek başına steroid tedavisi ile karşılaştırıldığı randomize kontrollü çalışmada her kolda 32 hasta ve 4 hafta boyunca tedavi verilmiş ve 12 ay sonunda prednizolon ve rituksimab kolunda yanıt oranı yaklaşık 2 kat yüksek olarak izlenmiştir (%75’e karşı %36; P=0,003) (30). Rituksimabın ilk basamak tedaviye eklenmesinin araştırıldığı ikinci randomize kontrollü çalışmada da sonuçlar benzer bulunmuştur (34).

İlk basamak tedaviye yanıt vermeyen vakalarda tanı tekrar gözden geçirilmesi önerilmektedir. Birinci basamakta kullanılmadıysa ikinci basamak tedavi rituksimab tercih edilmektedir (2, 35). Rituksumab tedavisine ortalama yanıt süresi 3-6 hafta yanıt oranları %70-80 olarak izlenmiştir (36). Bununla beraber, hastaların %30’unda 3 yıl içinde nüks görülmüştür (34).

Üçüncü basamak tedavi seçeneği hasta özelinde değerlendirilmelidir. Seçenekler arasında splenektomi, azatiyopürin, siklosporin ve mikofenolat mofetil gibi immünsüpresif tedavi ajanları vardır (31). İmmünsüpresifler tedaviler sonrası çeşitli düzeylerde yanıt izlenmiştir fakat sonuçlar küçük, retrospektif serilerden elde edilen verilerdir. Sistemik ve planlı çalışmalara gereksinim vardır (32). Oral androjen olan danazol, steroidden kurtarıcı tedavi olarak kullanılır,

ancak refrakter vakalarda daha az yararlı olduğu gösterilmiştir (37). Eritrosit stimüle ajanlar ise önceki tedavilerden bağımsız olarak, hastaların %70'inden fazlasında hemoglobim düzeyinde 2 g/dl'den fazla arttırmayı başardığı görülmüştür (38).

Splenektomi yapılan primer OİHA hastalarında yanıt oranı %70, tam yanıt oranı %40 olarak görülmüştür (31). Splenektomi sonrası hastaların üçte birinde relaps beklenmektedir, uzun dönem (>10 yıl) remisyon sonuçları bilinmemektedir. Dezavantajı, ciddi enfeksiyon riski ve tromboz riskinin daha da artmasıdır (31, 39, 40).

Acil durumlar için, yüksek doz steroid, intravenöz immünglobülin, kompleman inhibitörleri, plazmaferez ile retrospektif serilerde kısmi başarı elde edildiği gözlenmiştir (2, 31, 41, 42).

Otoimmün hastalıkların erken evrelerinde, otoreaktif B hücrelerinin (CD20+, CD38-) çoğaldığı ve hızla otoantikör üretimine yol açarak inflamatuvar aktiviteyi artırdığı düşünülmektedir (43). Son zamanlarda artan sıklıkla kullanılan rituksimab tedavisi, CD20+ B hücrelerini hedeflemesine rağmen önemli oranda relaps ve yetersiz yanıt ile seyretmektedir (44). Bunun nedeni otoimmünitenin sonraki aşamalarından sorumlu ve bu aşamalarda otoantikör üretimini sürdüren CD20 ekspresyonu olmayan B hücrelerinden ortaya çıkan plazma hücreleri olabilir (43). Rituksimab ve geleneksel immünsupresif tedaviler, plazma hücrelerini hedeflemekte yetersiz kalmaktadır (45). Son zamanlarda preklinik çalışmalarda otoimmün hastalıklarda, otoantikör üretiminden sorumlu uzun ömürlü plazma hücrelerine yönelik tedavilerin etkinli olduğu gösterilmiştir. Bortezomib ve Daratumumab gibi tedaviler plazma hücrelerine yönelik tedavilerdir. Bortezomib, multiple myelom ve relaps/refrakter mantle hücreli lenfoma tedavisi için onaylanmış, selektif ve geri dönüşümlü bir proteazom inhibitörüdür. Tümör yükünü azaltan plazma hücreleri ve lenfositleri hedef alır. Genel olarak bakıldığında relaps/refrakter OİHA'de vaka raporları ile bortezomib etkinliği gösterilmiştir (46-48). Daratumumab, plazma hücreleri ve lenfoplazmositlerde eksprese edilen transmembran glikoprotein CD38'i hedef alan ve multiple myelomda etkinliği kanıtlanmış bir monoklonal antikördür (49). Daratumumab'ın da relaps/refrakter OİHA'lerde etkinliği vaka raporları ile gösterilmiştir (50-53). Rituksimab tedavisine yanıtız OİHA vakalarında bortezomib ve daratumumab düşünülebilir (48).

4.5.2. Soğuk Tip Otoimmün Hemolitik Anemi

Soğuk tip OİHA'de, iskemik kardiyomiyopati ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi komorbiditeler yoksa, Hb>10g/dl olan hastaların medikal tedavisiz izlenebileceği belirtilmiştir (2). Akrosiyanoz, medikal tedavi endikasyonu değildir, soğuktan korunma ile yönetilebilir. Şiddetli Raynaud fenomeni olan hastalar, soğuktan korunma başarısız olursa tedavi gerektirebilir (54).

Ekstrakorporel dolaşımın söz konusu olduğu, plazmanın soğuğa maruz kaldığı kardiyotorasik cerrahi gibi durumlar özel yönetim gerektirmektedir. Termal genliğin dar olduğu hastalarda normotermi ve gereği halinde transfüzyon desteği uygulanmalıdır. Yüksek riskli hastalarda perioperatif eculizimab verilebilir (55).

SAH'da, glukokortikoidlerin yanıt oranı düşüktür ve yanıt veren hastalarda genellikle remisyonun sürdürülmesi için kabul edilemeyecek kadar yüksek dozlara ihtiyaç duyulur, bu nedenle tedavide kullanılmamalıdır (9, 10, 31). Patolojik B hücre klonuna yönelik Rituksimab tedavisi (1 haftalık aralıkla 375 mg/m², 4 doz), SAH'ta ilk tercihtir (12, 35). SAH tanısı alan 232 hastanın yayınlanan verilerinde 104 hasta rituksimab monoterapisi aldığı, bu hastalardan 61 (%59) tanesinin yanıt verdiği ve ortalama yanıt süresinin 15 (ort.1-60) ay olduğu bildirilmiştir (12).

Norveç'te 29 hasta ile yapılan 2010 yılındaki çalışmada rituksimab-fludurabin tedavisi ile %38 tam yanıt, %24 kısmi yanıt elde edilmiştir. Ortalama takip süresi 77 ay ve 5 yıllık remisyon oranı %71; 29 hastanın takibinde tedaviye bağlı geç ortaya çıkan malignite görülen hasta sayısı 9 olarak izlenmiştir (9, 56).

İskandinav ülkelerinde 2017 yılında yapılan rituksimab-bendamustin çalışmasına 45 hasta alınmıştır. Bu hastaların son takibine göre değerlendirmede 35 (%78) hastada yanıt olduğu; bunların 24 (%53) tam yanıt 11 (%24) kısmi yanıt olduğu görülmüştür. 5 yıllık remisyon oranı %77 olarak saptanmıştır (12, 54).

2018 yılında yayınlanan faz 2 prospektif, çok merkezli 19 tane relaps SAH vakasının olduğu tek doz verilen bortezomib çalışmasında 6 hastada yanıt saptanmıştır (57). Teoride bu oran, tedavi süresinin uzatılması veya bortezomib bazlı kombinasyon tedavisinin kullanılmasıyla artacağı düşünülmektedir (32).

Kompleman inhibisyonu umut veren yeni bir tedavi yaklaşımıdır ancak kompleman aracılı olmayan dolaşım semptomlarını hafifletmesi beklenmez (6, 10). Kompleman protein C1s'e karşı Sutimlimab, C3'e karşı pegcetacoplan ile hızlı, olumlu sonuçlar bildirilmiştir (6, 58). Kompleman inhibitörlerinin etkisini sürdürmek için muhtemelen süresiz olarak

sürdürülmesi gerekmektedir (10). Kompleman inhibitörleri, B hücreleri ve plazma hücrelerine karşı tedavinin başarısız olduğu veya kontraendike oldukları durumlarda, akut krizlerde hızlı yanıt alınması nedeniyle bir seçenektir (32)



5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Çalışma Protokolü ve Hasta Belirlenmesi

Çalışmamızda, Ocak 2010-Aralık 2020 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalında primer OİHA tanısı ile takip edilen hastaların incelemesi yapılmıştır. Çalışmamız tek merkezli, retrospektif bir kohort çalışmasıdır. Bu çalışma, Ankara Üniversitesi İnsan Araştırmaları etik kurulu tarafından onaylanmıştır.

Çalışmamıza, Ocak 2010- Aralık 2020 yılları arasında AÜTF Hematoloji BD'na başvuran primer otoimmün hemolitik anemi tanısı konulan 18 yaş üzerinde olan hastalar dahil edilmiştir. Sekonder OİHA (klinik ve radyolojik olarak aşıkâr lenfoma, aktif kanserler, enfeksiyonlar, diğer otoimmün hastalıklar vb.), edinsel (paroksizmal nokturnal hemoglobinüri vb.) ve kalıtsal (G6PD enzim eksikliği vb.) hemolitik anemisi olan hastalar dışlanmıştır. Hastalar ilk muayeneden son veri toplandığı zaman veya hastanın ölümüne kadar takip edilmiştir.

Hastalar belirlenirken 01.01.2010-31.12.2020 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalına başvurularda ICD kodu olarak D59 (Hemolitik Anemiler) ile sisteme 3664 giriş işlemi saptanmıştır. Tekrarlayan başvurusu olan hastalar çıkarıldığında 462 hastanın dosyası taranmıştır. Ek olarak tanı kodu girilmeyen hastalar da olabileceği düşünülerek Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanelerindeki kan merkezlerinde çalışılan toplam 28.403 DAT sonuçlarından tekrarlayan ve negatif sonuçlar çıkarıldığında DAT pozitifliği saptanan 4690 hastanın dosyası taranmıştır. Bu hastalar dahil edilme-dışlanma kriterleri açısından değerlendirilerek toplam 103 hasta çalışmaya dahil edilmiştir.

Tüm hastaların yatan hasta dosyalarından ve hastanemiz AVİCENNA bilgi sisteminden demografik özellikleri, tanı ile ilişkili bilgileri (tanı, başvuru tarihi, tanı yaşı, Coombs sonuçları, Soğuk aglütinin sonuçları, tedavi özellikleri, steroid kullanımı, plazmaferez durumu), laboratuvar bulguları (tanı anındaki lökosit, lenfosit, hemoglobin, hemoliz parametreleri), kronik hastalıkları, radyolojik görüntülemeleri (organomegali ve tromboembolik olaylar açısından), klinik takiplerinin (tedavi yanıtları) değerlendirilmesi yapılmıştır.

5.1.1. DAT değerlendirmesi ve Primer OİHA'nın sınıflandırılması

DAT testleri yapılırken, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kan Merkezi Laboratuvarında kullanılan Dia Pro® markalı “Across Screen Cell 4” hücre seti ile mikro kolon (jel) yöntemi kullanıldı. Hastaların eritrositleri kolona eklendikten sonra santrifüj edilen eritrositlerin anti-

human globülin ile reaksiyonu sonucu oluşan bandın kolondaki konumuna göre 0'dan +4'e kadar derecelendirilirdi. DAT sonuçlarına ve otoantikörün termal özelliklerine göre hastalar sıcak OİHA (IgG+C3d), SAH (C3d+, IgG negatif veya zayıf pozitif, soğuk aglütinin testi pozitif), Miks (IgG+, C3d+ eşlik eden sıcak otoantikör ve soğuk aglütinin pozitifliği) olarak belirlenmiştir.

5.1.2. Yanıtların Değerlendirilmesi

Farklı tedavilerin yanıt kriterleri değerlendirirken kriterler 2020 yılında yayınlanan uluslararası uzlaşısı raporuna göre uyarlanmıştır (2);

Tam Yanıt (TY): Hb'nin normal seviyeye dönmesi ve hemoliz kanıtının olmaması (normal bilirubin, haptoglobulin, retikülosit, laktat seviyeleri) transfüzyon ihtiyacının kalmaması olarak değerlendirildi.

Parsiyel Yanıt (Y): Hb seviyelerinde >2 g/dl artış veya hemoliz parametrelerinde biyokimyasal düzelme olmadan Hb'nin normal seviyeye gelmesi ve en az 7 gün transfüzyon ihtiyacının olmaması

Yanıtsız: Yanıt kriterlerini karşılamayan hastalar

Yanıt Süresi: Tam yanıt veya parsiyel yanıtın elde edilmesinden TY veya Y'ın kaybedilmesine kadar geçen süre

Steroid Direnci (SD): En az 1 mg/kg metilprednizolon veya eş değeri steroid tedavisine 3 hafta içinde yanıt alınamaması

Refrakter Hastalık: En az 3 sıra tedavi ile yanıtın sağlanamamasıdır. Sıcak OİHA olan hastalarda bu 3 tedavi içerisinde splenektomi ve/veya immünsüpresif tedavi olmalıdır.

5.1.3. Tromboembolik Olay Değerlendirilmesi

Hastaların pulmoner tromboemboli, derin ven trombozu, mezenter iskemi ve iskemik serebrovasküler olay açısından değerlendirmeleri hastane kayıt sistemi AVİCENNA üzerinden radyolojik görüntüler ve anamnez kayıtları üzerinden ulaşılmıştır.

5.2. İstatistiksel Analiz İstatistiksel Yöntem

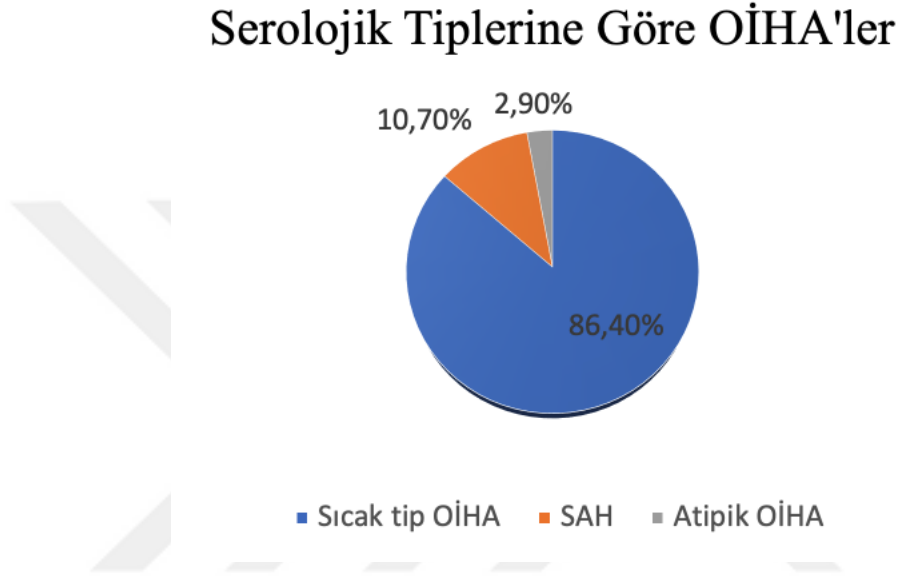
Verilerin analizi IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 25 paket programında yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) incelendi.

Tanımlayıcı analizler normal dağılan sayısal değişkenler için ortalama ve standart sapma; normal dağılmayan sayısal değişkenler için ortanca ve uç değerle; ordinal ve kategorik değişkenler için ise frekans tabloları ile verildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda normal dağılmayan sayısal değişkenler için Mann Whitney U testi, kategorik değişkenler için ise yerine göre Ki-kare ya da Fisher Testi kullanıldı. Otoimmün hemolitik anemili hastalarda tromboembolik olay gelişimi için bağımsız risk faktörlerini belirlemek amacıyla tek değişkenli analizde $p < 0,25$ olan değişkenler belirlendi. Bu değişkenlerden log rank p değeri $> 0,25$ olanlar ve log minus log eğrisi paralel olmayanlar analizden çıkarıldı. Korelasyon analizinde iki değişkenin arasındaki korelasyon katsayısı 0,6'nın üzerinde olduğunda log rank p değeri daha büyük olan veya klinik anlamlılığı daha düşük olan analizden çıkarıldı. Kalan değişkenler cox regresyon analizine dahil edildi ve bağımsız risk faktörleri için hazard oranları hesaplandı. Hesaplamalar sonucu oluşan rezidüeller değerlendirilerek dönemsel riskin oransallığı ve modelin doğruluğu test edildi. $P < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. Hastaların Tanımlayıcı Özellikleri

Araştırmaya dahil edilen 103 primer otoimmün hemolitik anemi hastasının 89'unun (%86,4) sıcak tip OİHA, 11'nin SAH (%10,7), 3'ünün atipik OİHA (%2,9) serolojik alt tipinde olduğu saptandı (Şekil 6.1).



Şekil 6.1. Çalışmaya dahil edilen otoimmün hemolitik anemi tanılı hastaların serolojik alt tiplerine göre dağılımı

Demografik özelliklere bakıldığında; tanı anındaki ortalama yaş tüm hastalar irdelendiğinde 56,4 (ÇAA:39,8-69), sıcak tip OİHA tanılı hastalarda 56,8 (ÇAA:39,9-69,2), SAH tanılı hastalarda 53,3 (ÇAA:44,9-70,5), atipik OİHA hastalarında ise 33,7 olarak bulundu. Kadın hastaların sayısının ve yüzdesinin tüm hastalarda sırasıyla 69 (%67), sıcak tip OİHA tanılı hastalarda 58 (%62,5), SAH tanılı hastalarda 10 (%90,9), atipik OİHA hastalarında ise 1 (%33,3) olduğu görüldü.

Takip süresince en az bir kere hastane yatış ihtiyacı olan hastaların sayısının ve yüzdesinin tüm hastalarda 52 (%50,5), sıcak tip OİHA tanılı hastalarda 42 (%47,2), SAH tanılı hastalarda 8 (%72,7), atipik OİHA hastalarında ise 2 (%66,7) olduğu görüldü, serolojik alt türler arasında hastane yatış ihtiyacı olan hasta oranlarının farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,11$). Hastaların ortalama takip süresinin tüm hastalar için 11 ay (ÇAA:2,1-31,5), sıcak tip OİHA tanılı hastalarda 10,2 ay (ÇAA:1,9-34,3), SAH tanılı hastalarda 13,7 ay (ÇAA: 3,2-25,6), atipik OİHA hastalarında ise 18,7 ay olduğu bulundu.

Tromboembolik olay yaşayan hastaların sayısına ve yüzdesine baktığımızda 12 (%11), sıcak tip OİHA tanılı hastalarda 11(%12,3), SAH tanılı hastalarda 1(%9,1) olduğu saptandı.

Evans sendromu olarak değerlendirilen hastaların sayısı ve yüzdesi değerlendirildiğinde 16 (%15,5), sıcak tip OİHA tanılı hastalarda 15 (%16,9), SAH tanılı hastalarda 1(%9,1) olduğu görüldü.

Hastaların 5'inin (%4,9) takipte exitus oldu, exitus olan hastaların tamamı sıcak tip OİHA tanılıydı. Hastaların serolojik alt tiplerine göre ayrıntılı tanımlayıcı verileri **Tablo 6.1**'de özetlenmiştir.

Tablo 6.1. Hastaların serolojik tiplerine göre tanımlayıcı özellikleri

	Tüm Hastalar n=103	Sıcak Tip OİHA n=89	SAH n=11	Atipik OİHA n=3	p değeri ⁺
Cinsiyet					0,10 ^a
Kadın, n (%)	69 (%67)	58 (%62,5)	10 (%90,9)	1 (%33,3)	
Erkek, n (%)	34 (%33)	31 (%34,8)	1 (%9,1)	2 (%66,7)	
Tanı anındaki yaş, yıl	56,4 (39,8-69)	56,8 (39,9-69,2)	53,3 (44,9-70,5)	33,7	0,79 ^b
Hastane yatışı olan hastalar n	52 (%50,5)	42 (%47,2)	8 (%72,7)	2 (%66,7)	0,11 ^c
Komorbitide					
Diabetes Mellitus	16 (%15,5)	16 (%18)	0 (%0)	0 (%0)	0,20 ^a
Hipertansiyon	24 (%23,3)	22 (%24,7)	2 (%18,2)	0 (%0)	>0,99 ^a
Kronik Böbrek Hastalığı	5 (%4,9)	5 (%5,6)	0 (%0)	0 (%0)	>0,99 ^a
Aterosklerotik Kalp Hastalığı	12 (%11,7)	12 (1%3,5)	0 (%0)	0 (%0)	0,35 ^a
Takip süresi, ay	11 (2,1-31,5)	10,2 (1,9-34,3)	13,7 (3,2-25,6)	18,7	0,93 ^b
Tromboembolik olay yaşayan	12 (%11)	11(%12,3)	1(%9,1)	0(%0)	>0,99 ^a
Evans sendromu	16 (%15,5)	15 (%16,9)	1 (%9,1)	0 (%0)	>0,99 ^a
Exitus, n (%)	5 (%4,9)	5 (%5,6)	0 (%0)	0 (%0)	>0,99 ^a

Kategorik veriler sayı (yüzde) ile ifade edilmiştir.

Sayısal değerler ortanca (çeyrekler açıklığı) olarak ifade edilmiştir

⁺Sıcak Tip OİHA ile SAH grubu kıyaslanmıştır

^aFisher's Exact Test, ^bMann-Whitney U, ^cChi-Square

Kısaltmalar: OİHA: Otoimmün Hemolitik Anemi

6.2. Hastaların Tanı Anındaki Klinik ve Laboratuvar Özellikleri

Hastaların serolojik tiplerine göre tanı anındaki laboratuvar ve klinik özelliklerine bakıldığında ortanca hemoglobin değeri sıcak tip OİHA hastalarında 8,1 mg/dl (ÇAA: 6,5-9,6), SAH hastalarında 8,6 mg/dl (ÇAA: 7,5-10,4), atipik OİHA hastalarında 9,2 mg/dl olarak

saptandı. Hemoliz parametrelerine baktığımızda ortalanca laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyleri, sıcak tip OİHA'da 395,5 U/L (ÇAA:255,5-596,3), SAH'da 379 U/L (ÇAA:253-430,5), atipik OİHA'de 501 U/L (ÇAA:316-1041) olarak bulundu. İndirekt bilirubin (İ.bil.) sonuçlarının ortalanca değerleri sıcak tip OİHA'da 1,6 mg/dl (ÇAA:0,76-2,76), SAH'da 1,83 mg/dl (ÇAA:0,73-3,38), atipik OİHA'da 1,7 mg/dl olarak artmış olduğu saptandı. Haptoglobulin düzeyi ortalanca değeri sıcak tip OİHA hastalarının 0,08 g/L (ÇAA:0,05-0,29), SAH hastalarında 0,28 g/L (ÇAA:0,05-0,3), atipik OİHA hastalarında 0,31g/L olarak, düşük saptandı. Hastaların ortalanca düzeltilmiş retikülosit ortalanca değeri sıcak tip OİHA için %5,9 (ÇAA:2,2-8,8), SAH'da %3 (ÇAA:1,45-6,35), atipik OİHA'da %5,3 olarak arttığı gösterildi. Hastaların hemoglobin, LDH, indirekt bilirubin, haptoglobulin ve düzeltilmiş retikülosit düzeyleri serolojik alt tiplerine göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (sırasıyla p=0,14, p=0,54, p=0,83, p=0,58 ve p=0,13).

Hastaların serolojik tiplerine göre hemoglobin değeri 10 g/dl altında olanların yüzdesi, sıcak tip OİHA hastalarının %83,1, SAH'da ise %54,5 olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (**p=0,04**). SAH hastalarının tanı anındaki ortalanca IgM düzeyi 1,68 mg/dl (ÇAA:1,25-5,02) sıcak tip OİHA ve atipik OİHA hastalarıyla kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulundu (**p=0,013**).

Hastaların tanı anındaki radyolojik görüntülemelerine bakıldığında 55 hastanın verisi mevcuttu. Sıcak tip OİHA hastalarında organomegali sayı ve yüzdesi splenomegali 15 (%16,9), hepatomegali 9 (%10,1) olarak görüldü. SAH ise hepatomegali 1 (%9,1), splenomegali 2 (%18,2) olarak saptandı. Hastalık serolojik alt tiplerine göre karşılaştırıldığında hepatomegali ve splenomegali varlığının istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği saptandı (her ikisi için de p>0,99). Hastaların serolojik alt tiplerine göre ayrıntılı laboratuvar verileri **Tablo 6.2**'de gösterildi.

Tablo 6.2. Hastaların serolojik tiplerine göre tanı anındaki laboratuvar ve klinik özellikleri

	Sıcak Tip OİHA n=89	SAH n=11	Atipik OİHA n=3	p değeri⁺
Lökosit, (x10⁹/L),	7,83 (5,95-12,06)	6,94 (5,96-12,5)	6,5	0,71 ^b
Lenfosit, (x10⁹/L),	1,67 (1,19-2,65)	1,58 (1-2,59)	1,6	0,47 ^b
Trombosit, (x10⁹/L)	225 (145-324,5)	275 (155-383,5)	228	0,47 ^b
Hemoglobin, (g/dl)	8,1 (6,5-9,6)	8,6 (7,5-10,4)	9,2	0,14 ^b
Hemoglobin				0,097 ^a
<6 g/dl	12 (%13,5)	0 (%0)	0 (%0)	
6-7,9 g/dl	31 (%34,8)	4 (%36,4)	0 (%0)	
8-9,9 g/dl	31 (%34,8)	2 (%18,2)	3 (%100)	
≥10 g/dl	15 (%16,9)	5 (%45,5)	0 (%0)	
Hemoglobin				0,040^c
<10 g/dl	74 (%83,1)	6 (%54,5)	3 (%100)	
≥10 g/dl	15 (%16,9)	5 (%45,5)	0 (%0)	
Eritrosit sayısı, (x10¹²/L)	2,58 (2,1-3,06)	2,27 (1,67-3,23)	2,93	0,36 ^b
Hematokrit, (%)	24,5 (20,2-28,5)	21,7 (17,8-28,8)	27,5	0,29 ^b
MCV, (fL)	98,7 (88,8-108,7)	100,7 (90,7-106,6)	96,6	0,87 ^b
RDW, (%)	19,1 (17,1-22,8)	19,1 (16,3-21,4)	25,2	0,41 ^b
LDH, n=99, (U/L)	395,5 (255,5-596,3)	379 (253-430,5)	501	0,54 ^b
İ. Bil., n=99, (mg/dl)	1,6 (0,76-2,76)	1,83 (0,73-3,38)	1,7	0,83 ^b
Haptoglobin, n=42, (g/L)	0,08 (0,05-0,29)	0,28 (0,05-0,3)	0,31	0,58 ^b
Retikülosit, n=83, (%)	9,55 (3,53-16,6)	4,34 (3,84-10,48)	8	0,21 ^b
Düzeltilmiş ret., n=83, (%)	5,9 (2,2-8,8)	3 (1,45-6,35)	5,3	0,13 ^b
CRP, n=97, (mg/l)	7,7 (2,3-15,7)	6,8 (1,7-19)	2,5	0,89 ^b
D Dimer, n=73, (ng/ml)	326,5 (159,3-736,8)	322,5 (117,8-2733,3)	183	0,58 ^b
IgG, n=85, (g/L)	11,4 (8,31-15,2)	9,73 (6,49-12,8)	9,37	0,088 ^b
IgA, n=80, (g/L)	1,79 (1,18-2,43)	1,8 (1-2,3)	1,58	0,52 ^b
IgM, n=80, (g/L)	0,93 (0,56-1,68)	1,68 (1,25-5,02)	1,36	0,013^b
C3, n=35, (g/L)	0,89 (0,68-1,13)	0,91 (0,71-0,99)	1,14	0,84 ^b
C4, n=35, (g/L)	0,19 (0,11-0,25)	0,13 (0,02-0,18)	0,3	0,074 ^b
Radyoloji bulguları, n=55				
Hepatomegali (%)	9 (%10,1)	1 (%9,1)	0 (%0)	>0,99 ^a
Splenomegali (%)	15 (%16,9)	2 (%18,2)	0 (%0)	>0,99 ^a

Kategorik veriler sayı (yüzde) ile ifade edilmiştir.

Sayısal değerler ortanca (çeyrekler açıklığı) olarak ifade edilmiştir

⁺Sıcak Tip OİHA ile SAH grubu kıyaslanmıştır

^aFisher's Exact Test ^bMann-Whitney U ^cChi-Square

Kısaltmalar: MCV: Ortalama hücresel hacim RDW: Eritrosit dağılım genişliği LDH: laktat dehidrogenaz İ.bil: İndirekt bilirubin CRP: C reaktif protein OİHA: Otoimmün Hemolitik Anemi

6.3. Hastaların Tedavi Özellikleri

Çalışma popülasyonun aldığı tedaviler değerlendirildiğinde sıcak tip OİHA hastalarında 89 (%100), SAH hastalarında 9 (%81,8) hastanın steroid aldığı görüldü. Steroid tedavisi alan hastalar en az 1 mg/kg dozdan 2-3 hafta aldığı görüldü. Hastaların 31'inin rituksimab tedavisi aldığı saptandı. Rituksimab tedavisi alan tüm hastaların tedavi dozu standart dozdu (375

mg/m2). Rituksimab alan hastaların serolojik tiplere göre dağılımına bakıldığında SAH hastalarında 9 (%54,5), sıcak tip OİHA hastalarında 25 (%28,1) hastanın aldığı gösterildi. SAH hastalarında rituksimab alan hastaların oranı daha yüksek olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p=0,091).

Splenektomi, sıcak tip OİHA tanılı 10 (%11,2), SAH tanılı 1 (%9,1) hastaya uygulandı. Sıcak tip OİHA tanılı olup splenektomi uygulanan hastalardan 3'ü Evans Sendromu tanısıyla izlenen OİHA gelişmeden önce İTP endikasyonu ile nedeniyle splenektomi yapılan hastalardı. 1 hastada ise OİHA gelişmeden önce dalakta görülen şüpheli lezyon nedeniyle splenektomi yapılmış olup patolojisi normal dalak patolojisi olarak yorumlandı. Çalışmamızda sadece OİHA endikasyonu ile splenektomi yapılan hastaların 6'sı sıcak tip OİHA'de, 1'i ise SAH tanısıyla izlenmekte olan hastalardı.

Steroid dışı immüsupresif ajanlara baktığımızda en fazla tercih edilen ajan mikofenolat mofetildi. Sıcak tip OİHA hastalarının %23,6'sı, SAH hastalarının %18,2'si mikofenolat mofetil aldı. Diğer immüsupresif tedavilere bakıldığında 18 hastanın siklosporin, 9 hastanın siklofosfamid, 6 hastanın azatiyopürin aldığı görüldü. Danazol verilen hasta sayısı 15'ti. SAH hastalarında 2 hasta fludurabin ve 1 hasta ise bortezomib tedavisi aldı. Hastaların serolojik tiplerine göre aldıkları tedaviler **Tablo 6.3**'de detaylı olarak verilmiştir.

Tablo 6.3. Hastaların serolojik tiplerine göre aldıkları tedavilerin karşılaştırması

Tedaviler	Sıcak Tip OİHA n=89	SAH n=11	Atipik OİHA n=3	p değeri ⁺
Steroid n=101	89 (%100)	9 (%81,8)	3 (%100)	0,10 ^a
Ritüksimab n=31	25 (%28,1)	6 (%54,5)	0 (%0)	0,091 ^a
Splenektomi n=11	10 (%11,2)	1 (%9,1)	0 (%0)	>0,99 ^a
Mikofenolat Mofetil n=23	21 (%23,6)	2 (%18,2)	0 (%0)	>0,99 ^a
Siklosporin n=18	15 (%16,9)	2 (%18,2)	1 (%33,3)	>0,99 ^a
Azatiyopirin n=6	5 (%5,6)	1 (%9,1)	0 (%0)	0,51 ^a
Danazol n=15	14 (%15,7)	1 (%9,1)	0 (%0)	>0,99 ^a
Siklofosfamid n=9	7 (%7,9)	2 (%18,2)	0 (%0)	0,26 ^a
Fludarabin n=2	0 (%0)	2 (%18,2)	0 (%0)	0,011^a
Bortezomib n=1	0 (%0)	1 (%9,1)	0 (%0)	0,011^a

Kategorik veriler sayı (yüzde) ile ifade edilmiştir.

⁺Sıcak Tip OİHA ile SAH grubu kıyaslanmıştır

^aFisher's Exact Test, ^bMann-Whitney U, ^cChi-Square

Hastaların aldıkları tedavilerin sırasına baktığımızda sıcak tip OİHA hastalarının hepsinin ilk sıra tedavide steroid aldığı görüldü. Sıcak tip OİHA hastalarından 3 tanesinin ilk sıra tedavide steroid ile rituksimab tedavisi aldığı izlendi. Sıcak tip OİHA hastalarında 2. sıra tedavide en çok tercih edilen

ajanlar rituksimab 13, mikofenolat mofetil 10 ve siklosporin tedavisiydi. Sıcak tip OİHA hastalarının aldıkları tedavilerin sırasına göre **Tablo 6.4**'de detaylı olarak verilmiştir.

Tablo 6.3. Sıcak tip otoimmün hemolitik anemi hastalarının tedavilerinin tedavi sırasına göre gruplandırılması

Tedaviler	1. sıra tedavi	2. sıra tedavi	3. sıra tedavi	4. sıra tedavi	5. sıra tedavi	6. sıra tedavi	7. sıra tedavi
Steroid n=89	89	-	-	-	-	-	-
Rituksimab n=24	3	13	6	1	1	-	-
Splenektomi n=6	-	2	1	2	1	-	1
Mikofenolat Mofetil n=21	-	10	6	-	3	2	-
Siklosporin n= 13	-	10	1	1	1	-	-
Azatiyopürin n=5	-	2	1	1	1	-	-
Danazol n=14	-	6	3	3	1	1	-
Siklofosfamid n=7	-	5	1	1	-	-	-

*Tedavi tarihi bilinen tedaviler kategorileştirilmiştir.

SAH hastalarının aldıkları tedavilere sırası ile baktığımızda 9 hastaya ilk sıra tedavide steroid verildiği görüldü. 1 hasta steroid ve rituksimab tedavisini ilk sıra tedavide birlikte alırken 2 hasta ilk sıra tedavide tek başına rituksimab tedavisi aldı. SAH tanısı olan 1 hastaya splenektomi yapıldı. SAH hastaların aldıkları tedavilerin sırasına göre **Tablo 6.5**'de detaylı olarak verilmiştir.

Tablo 6.3. Soğuk aglütinin hastalarının tedavilerinin tedavi sırasına göre gruplandırılması

Tedaviler	1.sıra tedavi	2. sıra tedavi	3. sıra tedavi	4. sıra tedavi	5. sıra tedavi	6. sıra tedavi	7. sıra tedavi
Steroid	9	-	-	-	-	-	-
Rituksimab	3	1	1	1	-	-	-
Splenektomi	-	-	-	-	-	1	-
Mikofenolat Mofetil	-	1	-	-	-	-	-
Siklosporin	-	2	-	-	-	-	-
Azatiyopürin	-	-	1	-	-	-	-
Danazol	-	1	-	-	-	-	-
Siklofosfamid	-	1	-	-	-	-	1
Fludarabin	-	1	-	-	1	-	-
Bortezomib	-	-	-	1	-	-	-

*Tedavi tarihi bilinen tedaviler kategorileştirilmiştir.

6.4. Hastaların Serolojik Tiplerine Göre Tedavi Yanıtları

Hastaların steroid tedavisine yanıtı değerlendirildiğinde sıcak tip OİHA hastalarında TY %37, PY %28,4 iken SAH hastalarında TY %37,5 PY %37,5 olduğu görüldü. Sıcak tip OİHA hastalarında steroid tedavisine yanıtı kadar geçen ortalama süre PY olan hastalarda 28 gün (ÇAA:14-55), TY olan hastalarda 44 gün (ÇAA:21-120); SAH hastalarında PY'ye kadar geçen süre 29 gün, TY'de 26 gündü.

Rituksimab tedavisinin yanıt oranları değerlendirildiğinde; sıcak tip OİHA hastalarında TY %43,5, PY %30,4 iken SAH'larında TY %50, PY %16,7'di. Sıcak tip OİHA hastalarında rituksimab tedavisine yanıtı kadar geçen ortalama süreye PY olan hastalarda 33 gün (ÇAA:7-195), TY olan hastalarda 89 gün (ÇAA:13-132); SAH hastalarında PY'ye kadar geçen süre 19 gün, TY'de 13 gündü.

Splenektomi tedavisinin sıcak tip OİHA hastalarında yanıt oranları değerlendirildiğinde TY %50, PY %16,7'idi. Sıcak tip OİHA hastalarında splenektomi sonrası yanıt sağlanana kadar geçen süre 65 gün (ÇAA:38,5-93,8) olarak izlendi.

Sıcak tip OİHA hastalarının steroid dışı immünsupresif tedavilerin yanıt oranına baktığımızda en yüksek yanıt mikofenolat mofetil tedavisiydi. Mikofenolat mofetil tedavisi alan hastalarda TY %52,4, PY %4,8'di. Mikofenolat mofetil alan hastaların yanıtı kadar geçen ortalama süre 48,5 gün (ÇAA:33,5-183,5) olarak görüldü. Hastaların serolojik tiplerine göre aldıkları tedavilerin yanıtı **Tablo 6.6**'da, yanıtı kadar geçen süre **Tablo 6.7**'de detaylı olarak mevcuttur.

Tablo 6.4. Hastaların serolojik tiplerine göre farklı tedavilere yanıt oranları

	Sıcak tip OİHA n=89	SAH n=11	Atipik OİHA n=3	p değeri ⁺
Steroid n=92	TY%37 PY%28,4 (n=81)	TY%37,5 PY%37,5 (n=8)	TY%100 PY%0 (n=3)	0,82 ^c
Rituksimab n=29	TY%43,5 PY%30,4 (n=23)	TY%50 PY%16,7 (n=6)	TY%0 PY%0 (n=0)	0,79 ^c
Splenektomi n=7	TY%50 PY%16,7 (n=6)	TY%0 PY%100 (n=1)	TY%0 PY%0 (n=0)	0,46 ^c
Mikofenolat Mofetil n=22	TY%52,4 PY%4,8 (n=21)	TY%0 PY%0 (n=1)	TY%0 PY%0 (n=0)	0,53 ^c
Siklosporin n=16	TY%30,8 PY%7,7 (n=13)	TY%50 PY%0 (n=2)	TY%100 PY%0 (n=1)	0,83 ^c
Azatiyopürin n=6	TY%40 PY%0 (n=5)	TY%0 PY%0 (n=1)	TY%0 PY%0 (n=0)	>0,99 ^a
Danazol n=15	TY%28,6 PY%0 (n=14)	TY%100 PY%0 (n=1)	TY%0 PY%0 (n=0)	0,33 ^c
Siklofosfamid n=9	TY%42 PY%0 (n=7)	TY%100 PY%0 (n=2)	TY%0 PY%0 (n=0)	>0,99 ^b
Fludarabin n=2	TY%0 PY%0 (n=0)	TY%50 PY%0 (n=2)	TY%0 PY%0 (n=0)	
Bortezomib n=1	TY%0 PY%0 (n=0)	TY%0 PY%0 (n=1)	TY%0 PY%0 (n=0)	

⁺Sıcak Tip OİHA ile SAH grubu kıyaslanmıştır

^aFisher's Exact Test, ^bMann-Whitney U, ^cChi-Square

Kısaltmalar: OİHA: Otoimmün Hemolitik Anemi SAH: Soğuk Aglütinin Hastalığı TY: tam yanıt PY: parsiyel yanıt

n: Yanıt Değerlendirilen Hasta Sayısı

Tablo 6.4. Hastaların serolojik tiplerine göre farklı tedavilerin tam yanıt ve parsiyel yanıt kadar geçen süreler

Tedaviler	Sıcak Tip OİHA	SAH	Atipik OİHA	p değeri ⁺
Steroid				
PY'e kadar geçen süre, gün, n=26	28 (14-55)	29	-	0,65 ^b
TY'e kadar geçen süre, gün, n=36	44 (21-120,5)	26	-	0,46 ^b
Yanıt kadar geçen süre, gün n=62	33 (19-85,5)	27,5(15,3-43,3)	-	
Ritüksimab				
PY'e kadar geçen süre, gün, n=8	33 (7-195)	19	-	0,75 ^b
TY'e kadar geçen süre, gün, n=11	89 (13,3-132,5)	13	-	0,13 ^b
Yanıt kadar geçen süre, gün n=19	53 (13-137)	15 (8,5-18,5)		
Splenektomi				
PY'e kadar geçen süre, gün, n=2	38	10	-	
TY'e kadar geçen süre, gün, n=3	90	-	-	
Yanıt kadar geçen süre n=5	65 (38,5-93,8)	10	-	
Mikofenolat Mofetil				
PY'e kadar geçen süre, gün, n=1	42	-	-	
TY'e kadar geçen süre, gün, n=11	55 (31-184)	-	-	
Yanıt kadar geçen süre n=12	48,5 (33,5-183,5)	-	-	
Siklosporin				
PY'e kadar geçen süre, gün, n=1	66	-	-	
TY'e kadar geçen süre, gün, n=6	39 (13-522,5)	54	67	>0,99 ^b
Yanıt kadar geçen süre n=7	53 (17-372,5)	54	67	>0,99 ^b
Azatiyopirin				
TY'e kadar geçen süre, gün, n=2	64 (49-)	-	-	
Danazol				
TY'e kadar geçen süre, gün, n=5	128,5 (27-556,3)	10	-	
Siklofosfamid				
TY'e kadar geçen süre, gün, n=5	30 (1-)	133 (10-)	-	0,44
Fludarabin				
TY'e kadar geçen süre, gün, n=1	-	17	-	
Bortezomib				
TY'e kadar geçen süre, gün, n=0	-	-	-	

Kategorik veriler sayı (yüzde) ile ifade edilmiştir.

Sayısal değerler ortanca (çeyrekler açıklığı) [en düşük değer- en yüksek değer] olarak ifade edilmiştir

⁺Sıcak Tip OİHA ile SAH grubu kıyaslanmıştır

^aFisher's Exact Test, ^bMann-Whitney U, ^cChi-Square

Kısaltmalar: OİHA: Otoimmün Hemolitik Anemi SAH: Soğuk Aglütinin Hastalığı TY: tam yanıt PY: parsiyel yanıt

6.5. Tedavi Yanıtlarına Göre Relapsın Değerlendirmesi

Relaps oranları değerlendirildiğinde steroid tedavisine PY olan hastaların %57,7, TY olan hastaların %33,3'ünde relaps izlendi. TY olanlarda daha düşük oranda relaps izlense de PY olup relaps olan grupla aralarında istatistiksel olarak p değeri (p=0,056) düşük olmasına rağmen istatistiksel anlamlılığa ulaşamadı. Sıcak tip OİHA hastalarında steroid ile yanıt sağlandıktan

sonra relapsa kadar geçen ortalama süre 55 gün (ÇAA:30-134), SAH hastalarında bu süre 120 gün (ÇAA:52,5-543) olarak izlendi.

Rituksimab ile relaps olan hastaların tamamı sıcak tip OİHA tanısı vardı. Rituksimab ile PY olan hastaların %50'si, TY olan hastaların %30,8'inde relaps görüldü. İstatistiksel olarak iki grup arasında fark yoktu ($p=0,65$). Sıcak tip OİHA hastalarında rituksimab ile yanıt sağlandıktan sonra relapsa kadar geçen ortalama süre 134,5 gün (ÇAA:22-282,5) olarak izlendi.

Splenektomi yanıtı olan 4 hastadan parsiyel yanıtı olan bir hastada relaps oldu. Splenektomi ile tam yanıt sağlanan hastalarda relaps görülmedi.

Steroid dışı immünsupresif tedavileri değerlendirdiğimizde mikofenolat mofetil ile yanıt sağlanan 12 hastanın TY olan 1 tanesinde relaps olduğu görüldü. Mikofenolat mofetil ile relaps oranı %9,1 ile düşük olduğu saptandı. Hastaların tedavi yanıtı olan hastaların relaps oranı **Tablo 6.8**'de, yanıt başlangıcından relapsa kadar geçen süre **Tablo 6.9**'da detaylı olarak bulunmaktadır.

Tablo 6.5. Tedavi yanıtı olan hastaların yanıt türüne göre relaps oranlarının karşılaştırılması

	Relaps Oranı	p değeri
Steroid n=62		0,056 ^a
PY	15 (%57,7)	
TY	12 (%33,3)	
Rituksimab n=21		0,65 ^b
PY	4 (%50)	
TY	4 (%30,8)	
Splenektomi n=5		0,25 ^b
PY	2 (%100)	
TY	0 (%0)	
Mikofenolat Mofetil n=12		>0,99 ^b
PY	0 (%0)	
TY	1 (%9,1)	
Siklosporin n=7		0,43 ^b
PY	1 (%100)	
TY	2 (%33,3)	
Azatiyopirin n=2		
PY	-	
TY	1 (%50)	
Danazol n=5		
PY	-	
TY	1 (20)	
Siklofosfamid n=5		
PY	-	
TY	1 (20)	
Fludarabin n=1		
PY	-	
TY	0 (0)	

Kategorik veriler sayı (yüzde) ile ifade edilmiştir.

^aChi-Square, ^bFisher's Exact Test

Relaps oranları, yanıt değerlendirilebilen hastalarda bakılmıştır.

Tablo 6.5. Hastaların serolojik tiplerine göre tedavi yanıtı sonrası relapsa kadar geçen süre

Tedaviler	Sıcak Tip OİHA	SAH	Atipik OİHA	p değeri ⁺
Steroid				
PY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=15	42 (21,5-67)	67 (38-)	-	0,57 ^b
TY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=12	106,5 (46,8-279)	410 (144-)	-	0,27 ^b
Relapsa kadar geçen süre, gün n=27	55 (30-134)	120 (52,5-543)	-	0,24 ^b
Ritüksimab				
PY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n= 4	134,5 (31-205)	-	-	-
TY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=4	168,5 (22-346,5)	-	-	-
Relapsa kadar geçen süre, gün n=8	134,5 (22-282,5)	-	-	-
Splenektomi				
PY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=2	279	18	-	-
TY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=0	-	-	-	-
Relapsa kadar geçen süre, gün n=2	279	18	-	-
Mikofenolat Mofetil				
PY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=1	5	-	-	-
TY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=1	11	-	-	-
Relapsa kadar geçen süre, gün n=1	11	-	-	-
Siklosporin				
PY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=1	5	-	-	-
TY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=2	134 (112-)	-	-	-
Relapsa kadar geçen süre, gün n=3	112 (5-)	-	-	-
Azatiyopürin				
PY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=0	-	-	-	-
TY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=1	82	-	-	-
Relapsa kadar geçen süre, gün n=1	82	-	-	-
Danazol				
PY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=0	-	-	-	-
TY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=1	-	46	-	-
Relapsa kadar geçen süre, gün n=1	-	46	-	-
Siklofosfamid				
PY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=0	-	-	-	-
TY'dan relapsa kadar geçen süre, gün, n=1	-	46	-	-
Relapsa kadar geçen süre, gün n=1	-	46	-	-

⁺Sıcak Tip OİHA ile SAH grubu kıyaslanmıştır

^aFisher's Exact Test ^bMann-Whitney U ^cChi-Square

Kısaltmalar: OİHA: Otoimmün Hemolitik Anemi SAH: Soğuk Aglütinin Hastalığı TY: tam yanıt PY: parsiyel yanıt

6.6. OİHA Hastalarında Tromboembolik Olay

OİHA hastalarının 12'sinde takipleri sırasında 15 TE olay gerçekleşti. TE olay gerçekleşen hastaların 9'ü kadın, 3'ü erkek olup TE olay gerçekleşmeyen hastalar dağılım benzer olarak izlendi. TE olay tanısı alan hastaların ortalama yaş değerlerine baktığımızda 72,9 yıl iken TE olay gelişmeyen hastaların 52,3 yıl olarak saptandı. İki grup arasında istatistiksel

olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,004$). TE olay gelişen hastaların 11'i sıcak tip OİHA, 1 tanesi SAH'sıydı. TE olayların dağılımına baktığımızda 6 hastada PTE, 5 hastada DVT, 3 hastada, 1 hastada mezenter iskemi görüldü. İskemik SVO TE olay gelişen hastaların %83,3 hastane yatışı gerekirken bu oran TE olay gerçekleşmeyen hastalarda %46,1'di. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p=0,015$).

Tablo 6.6. Tromboembolik olay gelişen OİHA hastaların tanımlayıcı özellikleri

	Tromboembolik olay gelişen hastalar n=12	Tromboembolik olay gelişmeyen hastalar n=91	p değeri
Cinsiyet			0,75 ^a
Kadın	9 (75)	60 (65,9)	
Erkek	3 (25)	31 (34,1)	
Tanı yaşı, yıl	72,9 (57,2-78,7)	52,3 (39-67,5)	0,004^b
Tanı			0,78 ^c
Sıcak Tip OİHA	11 (%91,7)	78 (%85,7)	>0,99 ^a
SAH	1 (%8,3)	10 (%11)	>0,99 ^a
Atipik OİHA	0 (%0)	3 (%3,3)	
Tromboembolik olay			
Pulmoner Tromboemboli	6 (%50)		
Derin Ven Trombozu	5 (%41,7)		
İskemik Serebrovasküler Olay	3 (%25)		
Mezenter İskemi	1 (%8,3)		
Komorbitide			
Diabetes Mellitus	2 (%16,7)	14 (%15,4)	>0,99 ^a
Hipertansiyon	7 (%58,3)	17 (%18,7)	0,006^a
Kronik Böbrek Hastalığı	1 (%8,3)	4 (%4,4)	0,47 ^a
Aterosklerotik Kalp Hastalığı	6 (%50)	6 (%6,6)	<0,001^a
Hastane yatışı	10 (%83,3)	42 (%46,1)	0,015^c
Takip süresi, ay	29,5 (5,3-72,5)	10 (1,8-28,8)	0,060 ^b
TE olaya geçen süre, ay, n=12	2,9 (1-9,6)		
Exitus	1 (%8,3)	4 (%4,4)	0,47 ^a
Evans sendromu	2 (%16,7)	14 (%15,4)	>0,99 ^a

Kategorik veriler sayı (yüzde) ile ifade edilmiştir.

Sayısal değerler ortanca (çeyrekler açıklığı) [en düşük değer- en yüksek değer] olarak ifade edilmiştir

^aFisher's Exact Test, ^bMann-Whitney U, ^cChi-Square

TE olay gerçekleşen hastaların takip süresine baktığımızda ortalama değeri 29,5 ay iken TE gelişmeyen hastaların ortalama takip süresi 10 aydı. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da p değeri düşüktü ($p=0,06$). TE olay gerçekleşene kadar geçen ortalama süre 2,9 ay'dı. TE olay gerçekleşen hastaların 2'sinde Evans sendromu vardı. TE olay gerçekleşen hastalarda exitus 1'inde gerçekleşti.

TE olay gerçekleşen hastaların laboratuvar değerlerine baktığımızda TE olay gelişen hastaların ortalama lenfosit değeri $1,35 \times 10^9/L$, TE olay gelişmeyen hastalarda $1,67 \times 10^9/L$ idi. İki grup arasında istatistiksel olarak fark görüldü ($p=0,049$). TE olay gerçekleşen hastaların tanı anındaki ortalama hemoglobin değeri 7,9 g/dl iken TE olay gerçekleşmeyen hastalarda 8,4 g/dl idi ($p=0,66$). TE olay gerçekleşen hastaların tanı anındaki ortalama LDH değeri 409 U/L iken TE olay gerçekleşmeyen hastalarda 392 U/L idi ($p=0,07$). TE olay gerçekleşen hastaların tanı anındaki ortalama D-dimer değeri 872,5 ng/ml iken TE olay gerçekleşmeyen hastalarda 392 U/L idi. TE olay gerçekleşen hastalarda tanı anında D-dimer değeri daha yüksek olsada anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p=0,17$). TE olay gerçekleşen gruba baktığımızda tanı anında 4 hastanın splenomegalisi vardı.

Çok değişkenli analiz ile, TE olay gelişimini etkileyebilecek faktörlere bakıldığında komorbid hastalık olarak ASKH olması ($HR=4,53$, %95 GA:1,21-16,99, $p=0,025$) ve hastane yatışı olan hastalarda ($HR=6,25$, %95 GA:1,21-16,99, $p=0,024$) TE gelişmesi açısından bağımsız bir risk faktörü olarak bulunmuştur.

Tromboembolik olay gelişen OİHA hastaların tanımlayıcı özellikleri **Tablo 6.10**'da, tromboembolik olay gelişen OİHA hastaların tanı anındaki laboratuvar ve klinik özellikleri **Tablo 6.11**'de, tromboembolik olay gelişen OİHA hastaların çok değişkenli analizi **Tablo 6.12**'de detaylı olarak gösterilmiştir.

Tablo 6.6. Tromboembolik olay gelişen OİHA hastaların tanı anındaki laboratuvar ve klinik özellikleri

	Tromboembolik olay gelişen hastalar n=12	Tromboembolik olay gelişmeyen hastalar n=91	p değeri
WBC, ($\times 10^9/L$)	6,8 (4,19-9,62)	7,8 (6,09-12,41)	0,16 ^b
Lenfosit, ($\times 10^9/L$)	1,35 (0,8-1,95)	1,67 (1,21-2,74)	0,049^b
Trombosit, ($\times 10^9/L$)	218 (185,3-331,5)	230 (139-336)	0,72 ^b
Hemoglobin, (g/dl)	7,9 (6,5-9,8)	8,4 (6,7-9,6)	0,66 ^b
Hemoglobin			0,45 ^a
<10 g/dl	11 (%91,7)	72 (%79,1)	
≥10 g/dl	1 (%8,3)	19 (%20,9)	
RBC, ($\times 10^{12}/L$)	2,75 (2,05-3,05)	2,55 (2,1-3,06)	>0,99 ^b
Hematokrit, (%)	24,6 (20,7-29,5)	24,1 (19,5-28,4)	0,61 ^b
MCV, (fL)	101 (96,4-107,1)	98,4 (88,8-107,7)	0,61 ^b
RDW, (%)	18,4 (16,9-22)	19,6 (17-22,9)	0,52 ^b
LDH, n=99, (U/L)	409 (277,8-596,8)	392 (256-582)	0,70 ^b
İndirekt bilirubin, n=99, (mg/dl)	1,5 (1,1-3,06)	1,63 (0,16-14,04)	0,86 ^b
Haptoglobin, n=42, (g/L)	0,17 (0,05-0,3)	0,14 (0,05-0,3)	0,91 ^b
Retikülosit, n=83, (%)	9,55 (4,01-19,98)	8,03 (3,56-16,07)	0,58 ^b
Düzeltilmiş retikülosit, n=83, (%)	6,8 (2,3-9)	4,85 (2,2-8,65)	0,51 ^b
CRP, n=97, (mg/dl)	6,3 (3,2-11,8)	7,9 (2,1-16)	0,92 ^b
D Dimer, n=73, (ng/ml)	872,5 (159-2178)	313 (136,5-586,5)	0,17 ^b
IgG, n=85, (g/dl)	9,71 (7,62-13,3)	11,3 (8,8-14,6)	0,51 ^b
IgA, n=80, (g/dl)	1,73 (1,23-2,03)	1,91 (1,09-2,44)	0,61 ^b
IgM, n=80, (g/dl)	1,11 (0,74-2,9)	1,04 (0,62-1,87)	0,56 ^b
C3, n=35, (mg/dl)	0,7 (0,59-1,08)	0,91 (0,74-1,13)	0,42 ^b
C4, n=35, (mg/dl)	0,2 (0,07-0,25)	0,17 (0,1-0,25)	0,95 ^b
Radyolojik görüntüleme, n=55 (%)			
Hepatomegali	0 (%0)	10 (%11)	0,60 ^a
Splenomegali	4 (%33,3)	13 (%14,3)	0,11 ^a

Kategorik veriler sayı (yüzde) ile ifade edilmiştir.

Sayısal değerler ortanca (çeyrekler açıklığı) [en düşük değer- en yüksek değer] olarak ifade edilmiştir

^aFisher's Exact Test, ^bMann-Whitney U, ^cChi-Square

Tablo 6.6. Tromboembolik olay gelişen OİHA hastaların çok değişkenli analizi

	Tek Değişkenli Analiz		Çok Değişkenli Analiz	
	HR (%95 Güven Aralığı)	p değeri	HR (%95 Güven Aralığı)	p değeri
Tanı yaşı ($\geq 50 \rightarrow < 50$)	8,18 (1,06-63,44)	0,044	3,31 (0,36-30,01)	0,29
Hastane yatışı (var $\rightarrow$ yok)	5,77 (1,26-26,41)	0,024	6,25 (1,27-30,73)	0,024
ASKH (var $\rightarrow$ yok)	8,96 (2,72-29,50)	<0,001	4,53 (1,21-16,99)	0,025
Lenfosit ($< 1500 \rightarrow \geq 1500$)	2,28 (0,73-7,16)	0,16	1,14 (0,30-4,38)	0,85
Splenomegali (var $\rightarrow$ yok)	3,56 (1,04-12,22)	0,043	1,56 (0,38-6,45)	0,54
Steroid ile CR (yok $\rightarrow$ var)	5,03 (1,06-23,91)	0,042	4,51 (0,55-37,15)	0,16
ES (var $\rightarrow$ yok)	3,88 (1,05-14,37)	0,042	3,45 (0,79-15,12)	0,10

Tromboembolik olay gelişimi için bağımsız risk faktörleri Cox regresyon analizi ile değerlendirildi

7. TARTIŞMA

OİHA nadir görülen ağır seyredabilen bir anemi türüdür. Kliniğinin heterojen oluşu tanı ve tedaviye ilişkin kılavuzların sınırlılığı nedeniyle hasta yönetimi zor olabilmektedir. Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalında 2010-2020 yılları arasında takip edilen primer OİHA hastalarının belirlenerek serolojik türlere göre sınıflandırılması, aldıkları tedaviler, tedavi yanıtları ve yanıt süreleri, relaps oranları ve primer OİHA hastalarındaki tromboz oranları ve trombozu öngörme ile ilişkili faktörler araştırılmıştır.

OİHA'lerin klinik değişkenlikleri ve tedavideki farklılıkları nedeniyle serolojik alt tipi belirlenmelidir (2). Literatürde ulaşabildiğimiz primer otoimmün hemolitik anemiler ile ilgili en büyük seri Barcellini ve arkadaşlarının İtalya'da 8 farklı hematoloji merkezinde 1978-2013 yılları arasında yaptığı 308 hastanın retrospektif verisini içeren GIMEMA çalışmasıdır. Bu çalışmada serolojik alt tiplere göre hastaların dağılımı oranları %60 sıcak tip OİHA, %27 SAH, %8 miks tip OİHA ve %5 atipik OİHA olarak bulunmuştur (1). Bizim çalışmamızda 103 tane primer OİHA hastamızın 89'unun (%86,4) Sıcak tip OİHA, 11'nin SAH (%10,7), 3'ünün atipik OİHA serolojik alt tipinde olduğu saptanmıştır. GIMEMA çalışmasıyla kıyaslandığında çalışmamızdaki SAH oranının düşüklüğü dikkat çekmektedir. Literatürde SAH'ın OİHA'lar içindeki oranını %15-25 arasında bildiren yayınlar bulunmaktadır (21, 59). SAH oranlarındaki farklılığın bir diğer nedeni ise coğrafi farklılıklar olabilir. Hansen ve arkadaşları, SAH insidansının dış ortam sıcaklığı ve iklime bağlı olarak değişebildiğini göstermiştir (8). Çalışmamızda İtalya ile benzer iklime sahip olmamıza rağmen bizim sonuçlarımızda SAH oranının güncel çalışmalardan daha düşük saptanması tek merkezli bir çalışma olması, yetersiz SAH tanısı konulmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda hastaların tanı anındaki ortalama hemoglobin düzeylerinin serolojik alt tiplerine göre farklılık göstermediği saptandı. 2020 yılında yayınlanan uzlaşi raporunda ciddi anemi için sınır 8 g/dL'nin altı olarak kabul edilmiştir. Hastalarımızın %45'inde ciddi başlangıçlı olması, GIMEMA çalışmasına göre (%62) düşük oranda saptanmıştır (1). Hastalar hemoglobin düzeylerine göre tabakalandırıldığında Hb 8 g/dL'nin altında olan hastaların oranı sıcak OİHA'da (%48,3) SAH'tan (%36,4) daha yüksek saptandı ancak istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,45$). Hb 10 g/dL'nin üzerinde olan hastaların oranı SAH'te sıcak tip OİHA'ya göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha yüksek bulundu (sırasıyla %45,5 ve %16,9, $p=0,04$). GIMEMA çalışmasında da benzer şekilde Hb düzeyi 10 g/dL'in üzerinde olan hasta oranı (%24) sıcak tip OİHA'dan (%9) yüksek bulunmuştur (1). SAH tanısı olan 232 hastanın incelendiği gözlemsel bir diğer çalışmada ise Hb düzeyi 8 g/dL'nin altında olan

hastaların oranı %26,7 iken Hb düzeyi 10 g/dL ve üzeri olan hastaların oranı %38,4 olarak saptanmıştır (12). Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak hastalık başlangıcında daha hafif kliniğe sahip olan hastalar, SAH grubunda sıcak OİHA'ya göre daha yüksek oranda olduğu görüldü.

Uluslararası uzlaşma raporu 2020 yılında yayınlanmadan önce OİHA tedavisi standardize değildi ve tedaviler hakkında edinilen bilgiler çoğunlukla vaka serilerine dayanıyordu. Hb değeri 10g/dL'nin üzerinde olduğunda hafif hastalık olarak değerlendirilerek, tedavisiz "bekle ve gör" yaklaşımının uygulanabileceği önerilmiş olsa da bizim takiplerimizde hafif vakalar dahil tüm OİHA hastalarına tedavi verildiği görüldü (2). Çalışmaya dahil edilen hastaların büyük çoğunluğunun steroid tedavisi aldığı görüldü. SAH hastalarında steroid tedavisi verilmesi önerilmemektedir (60). Bazı çalışmalarda SAH'da kabul edilemeyecek kadar yüksek dozlarda steroid verilmiş olup düşük yanıt oranları elde edildiği saptanmıştır (59, 61). Steroid alan hastaların yanıt oranları literatüre yakın olarak %70'e yaklaşmakla beraber sıcak tip OİHA ve SAH 'de tam yanıt oranları benzerdi (1, 62, 63). Literatürde steroid tedavisi ile izlenen hastaların %20'sinde tam ve kalıcı remisyon sağlandığı görülmüştür (64, 65). Çalışmamızda steroid alan hastalara bakıldığında literatüre benzer şekilde tedavi sonrası tam yanıt sağlanan ve takibinde nüks olmayan hasta sayısı 24 (%26) olarak izlenmiştir.

Bir anti-CD20 monoklonal antikoru olan rituksimabın OİHA tedavisinde kullanılmaya başlanması 2000'li yıllarda gündeme gelmiştir. Bizim çalışmamızdaki hastaların 31'i rituksimab tedavisi almıştır; bu hastaların 25'i sıcak tip OİHA, 6'sı ise SAH tanısı olan hastalardır. Sıcak tip OİHA hastalarında ciddi anemisi olan 3 hastada steroid tedavisine kombine olarak ilk sıra tedavide rituksimab verilmiştir. Rituksimab tedavisi alan yanıt değerlendirme yapılan sıcak tip OİHA tanısı olan 23 hastada TY oranı %43,5, PY oranı ise %30,4 olarak saptanmıştır. Sıcak tip OİHA hastalarında yanıt oranı steroid tedavisine yakın olmakla birlikte yanıt alındıktan sonra relapsa kadar geçen sürenin rituksimab alan hastalarda steroid alan hastalardan daha uzun olduğu görülmüştür (sırasıyla 134 gün ve 55 gün). Berentsen ve arkadaşlarının 2014 yılında yayınladıkları retrospektif GIMEMA çalışmasında sıcak tip OİHA tanısı olan 25 hastada standart doz rituksimab tedavisine yanıt oranı TY %44, PY%35 ile bizim çalışmamızla benzer olduğu bulunmuştur (1). Çalışmamızdaki SAH tanılı hastaların ise 2'sinde rituksimab tek başına ilk sıra tedavi olarak verilirken 1 hastada steroid tedavisi ile kombine olarak ilk sıra tedavi olarak uygulamıştır. SAH tanısı ile takip edilen hastalardan rituksimab tedavisi alan 6 hastanın tedavi yanıtları değerlendirildiğinde TY oranı %50, PY oranı ise %16,7 olarak saptanmıştır. GIMEMA çalışmasında SAH tanısı olan standart doz rituksimab tedavisi alan 20 hastanın yanıt oranları TY %45, PY %35 olarak görülmüştür (1).

Berentsen ve arkadaşlarının 2004 yılındaki prospektif çalışmasında ise SAH tanısı olan 27 hastada rituksimab monoterapisi, toplam yanıt oranı %50 olarak izlenmiştir (66). Bu iyi yanıt oranlarına rağmen rituksimabın temin edilmesi her bölge için kolay olmayabilir. Ayrıca, özellikle immün yetmezlik (geç başlangıçlı nötropeni, hipogamaglobulinemi) ve altta yatan enfeksiyonların (HBV, HCl, HIV, tüberküloz) reaktivasyonu gibi önemli yan etkiler dikkate alınmalıdır. Steroid tedavisinden önce çeşitli testler (HBsAg, anti-HBs, anti-HBc, anti-HCV, anti-HIV ve quantiferon-TB) tavsiye edilir, ancak rituksimab tedavisi öncesi bu testler zorunludur (7).

Bizim çalışmamızda rituksimab alan tüm hastalara standart doz (375mg/m²) tedavi verilmiştir. Literatürde düşük doz rituksimab (100mg/m²) tedavisinde standart doz ile aynı düzeyde etkili olduğuna dair sonuçlar vardır (67-69). Düşük doz rituksimab tedavisinin, daha az yan etki oluşturması ve maliyet açısından daha etkin olması nedeniyle avantajlı olabileceği düşünülmüştür.

Rituksimab tedavisiyle ilişkili bir diğer güncel araştırma konusu ile SAH hastalarında daha derin ve uzun süreli tam yanıtlar elde edebilmek amacıyla rituksimab tedavisine bendamustin veya fludarabin eklenmesidir. 2017 yılında prospektif çok merkezli çalışmada rituksimab ve bendamustin alan 45 hastanın 18'inde (%40) tam yanıt, 14'ünde (%31) parsiyel yanıt izlenmiştir (54). Bu çalışmanın 3 yıl sonraki yayınlanan verilerine baktığımızda rituksimab ve bendamustin tedavisi 45 hastanın 35'inde (%78) tam ve parsiyel yanıt ile sonuçlandı; hastaların 24'ünde (%53) tam yanıt olduğu görülmüştür (9). Rituksimab tedavisine fludrabin eklenerek 2010 yılında 29 hasta ile yapılan prospektif çalışmada 6'sında (%21) tam yanıt, 16'sında (%55) parsiyel yanıt izlenmiştir (56). Rituksimab ve fludrabin alan 29 hastanın 2020 yılındaki değerlendirmelerinde hastaların 11'i (%38) tam yanıt, 7'sinde (%24) parsiyel yanıt olduğu görülmüştür. İlginç bir şekilde, tam yanıt oranlarının önceki sonuçlardan daha yüksek olduğu ve zamanla daha derin yanıtlara doğru bir kayma izlendiği saptanmıştır. Bu durum, uzun ömürlü plazma hücrelerinin hedeflenmesi ile açıklanmaktadır (9). Bu tedavilerin kısa vadeli toksik etkileri ve olası geç yan etkileri ile ilgili endişler olmakla birlikte bendamustin içeren tedavi rejimlerinin geç ortaya çıkan maligniteler açısından güvenli olduğu belirtilmiştir (9). Bizim çalışmamızda rituksimab ve fludurabin kombine olarak alan 2 hasta vardı. Bu kısıtlı deneyimimizde 1 hastada tam yanıt izlenirken diğer hastada yanıt görülmemiştir.

Splenektomi tedavisi, OİHA hastalarında kısa sürede yanıt ve bazı hastalarda uzun süreli remisyon sağlayabilir (70). Splenektomi sonrası hemoliz tekrarlasa bile, hastalar çoğunlukla daha düşük doz steroide ihtiyaç duyması beklenmektedir (71, 72). Splenektominin en korkulan komplikasyonu aşıların kullanılmaya başlamasından sonra %3-5 oranında görülen %50'ye

varan ölüm oranına sahip olan kapsüllü bakterilerin neden olduğu sepsis kliniğidir (73). OİHA hastalarında splenektomi, yanıtın önceden tahmin edilememesi, hastaların ameliyat olma isteksizliği, splenektomi sonrası dönemde artan venöz tromboemboli ve artan enfeksiyon riski nedeniyle tercih edilmeyebilir (74). Bizim çalışmamıza dahil edilen hastalarda splenektomi, hastaların küçük bir kısmı 11 (%9,36) hastaya uygulanmıştı. Bu hastalardan 3'ü Evans Sendromu tanısıyla izlenen OİHA gelişmeden önce İTP endikasyonu ile nedeniyle splenektomi yapılan hastalardı. 1 hastada ise OİHA gelişmeden önce dalakta görülen şüpheli lezyon nedeniyle splenektomi yapılmıştı. Çalışmamızda OİHA endikasyonu ile splenektomi yapılan hastaların 6'sı sıcak tip OİHA'de, 1'i ise SAH tanısıyla izlenmekte olan hastalardı. Çalışmamızda splenektomi yanıt oranları sıcak tip OİHA'de %50 TY, %16,7 PY iken splenektomi yapılan tek SAH hastasında PY izlendi. Vaka serimizde de literatüre benzer olarak SAH hastalarında splenektomi daha az uygulandı. SAH hastalarında splenektominin daha az tercih edilmesi ve yetersiz yanıtın sebebi SAH'te hemoliz mekanizmasının esas olarak ekstravasküler hepatik hemoliz ile karakterize oluşu ile açıklanabilir (24).

İmmüsupresif tedavilerin, hastalarımızın önemli bir kısmında kullanıldığını görüldü. En çok tercih edilen ajanın mikofenalat olduğu saptandı. Mikofenalat ile takip edilen vakalarımızın %56'sında yanıt görüldü. Yüksek yanıt oranı, steroid eşliğinde veya steroid tedavisi sonrası kullanıma atfedilebilir. Daha önceki yapılan çalışmalarda da mikofenalat mofetilinin otoimmün sitopenilerde iyi yanıt oranı ve tolere edilebilir yan etki profili olduğu gösterilmiştir (75). Sonuçta, rituksimab ve splenektomi gibi etkili tedavilerin mevcut olmasına rağmen, bulgularımız immüsupresif tedavilerin klinik uygulamada hala etkin bir seçenek olarak kullanıldığını göstermiştir.

OİHA'lerin şiddetinden sorumlu olan mekanizmalardan biri kemik iliği öncülerine karşı bir otoimmün saldırı ve bunun sonucunda periferik retikülositopenidir. Bu bağlamda, rekombinant eritropoezi stimüle edici ajan ile tedavi eritropoezi sürdürerek retikülosit kompanzasyonunu sağlar ve aşırı immün baskılanmadan kaçınarak otoimmün alevlenmenin çözülmesi için zaman tanır (38, 76, 77). Yakın zamanda rekombinant eritropoezi stimüle edici ajanın hem primer hem de sekonder OİHA hastalarının %70'inde, OİHA serolojik alt tipinden ve önceki tedavilerden bağımsız olarak ortalama 2,4 mg/dL Hb artışıyla etkili olduğu bildirilmiştir (38). Bizim çalışmamızda 1 hastaya KBH komorbiditesi nedeniyle eritropoez stimüle edici ajan verildi.

Hemolitik anemiler, tromboembolik olayların insidansında artış ile ilişkilidir (78). Hemolitik anemilerde trombozun potansiyel mekanizması, eritrositlerin yıkımından ortaya çıkan mikro partiküller ve serbest hem nedeniyle azalan nitrit oksit düzeyinin endotel hasarı ve

koagülasyon yolunun aktivasyonudur (79). OİHA hastalarında tromboembolik olay için rölatif riskin 2,6 kat arttığı saptanmıştır (80). Primer OİHA hastalarından oluşan GIMEMA çalışmasında OİHA hastalarının %11'inde tromboembolik olay gerçekleşmiştir. Aynı çalışmada düşük hemoglobin ($Hb < 8g/L$) ve yüksek LDH seviyelerinin tromboembolik olay gelişiminde bağımsız risk faktörleri olduğu gösterilmiştir (1). Çalışmamızda düşük hb ve yüksek LDH seviyelerinin ile tromboembolik olay gelişiminde ilişki gösterilemedi. Bizim çalışmamızda da primer OİHA hastalarında tromboembolik olay yaşayan hastaların oranı %11,6 olarak literatür ile benzer bulunmuştur. Tromboembolik olay için risk faktörleri çok değişkenli analiz ile değerlendirdiğimizde komorbid hastalıklar ve hastane yatışı tromboemboli gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda splenektomi uygulanan OİHA hasta sayılarının azlığı nedeniyle OİHA hastalarında splenektomi ve TE olay arasındaki ilişki değerlendirilememiştir. Amerika'da yapılan 2020 yılında yayınlanan bir çalışmada OİHA hastalarında tromboembolik olay gelişme riskinin splenektomiden bağımsız yüksek olmasının yanı sıra, splenektomi olan OİHA hastalarında tromboemboli gelişme riskinin splenektomi olmayanlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada yapılan çok değişkenli analizde tromboembolik olay gelişiminin OİHA hastalarında tüm nedenlere bağlı mortalite için bağımsız bir risk faktörü olduğu bulunmuştur (74).

Çalışmamızın temel kısıtlılıkları tek merkezli ve retrospektif bir çalışma olmasıdır. Retrospektif bir çalışma olmasının dezavantajı olarak veri eksikliklerinin bulunması, özellikle hasta sayısının az olduğu tedavi gruplarında tedavi yanıtlarının değerlendirilmesini güç kılmıştır. Çalışmamızın bir diğer kısıtlılığı hasta grubunun aldıkları sıralı tedaviler açısından homojen olmamasıdır. Çalışmamızda 2. sıra tedavi olarak hastaların bir kısmı rituksimab tedavisi, bir kısmı farklı immünsüpresif tedaviler alırken bir kısmına da splenektomi uygulanmıştır. Hastaların steroid tedavisi sonrası aldıkları sıralı tedaviler açısından homojen olmaması nedeniyle bu tedavilerin birbiri ile yanıt üzerine etkisi değerlendirilememiştir.

Çalışmamızın güçlü taraflarından biri primer OİHA'lerden oluşan literatürle kıyaslandığında nispeten yüksek hasta sayısından oluşan kohorta sahip oluşumuzdur. Primer OİHA'ler nadir görülen bir hastalık olduğunu göz önüne alırsak ülkemizdeki primer OİHA'leri inceleyen literatürdeki en büyük çalışma olduğu söylenebilir. Çalışmamız diğer güçlü yanı OİHA'lerde tromboembolik olayların gelişimindeki risk faktörlerini aydınlatmada literatüre katkıda bulunmasıdır.

8. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda tek merkezde 2010-2020 yılları arasında primer OİHA tanısı alan 103 hastanın verileri incelenmiştir. Sıcak tip OİHA hastaları, SAH'a göre daha yüksek oranda seyretmektedir. Hafif klinik başlangıçlı hasta oranı SAH'da daha yüksektir.

Her ne kadar uzlaşi raporunda hafif klinik başlangıçlı hastalarda (Hb>10 g/dl) tedavisiz "bekle ve gör" önerilse de klinik pratikte tüm hastaların başlangıçta tedavi verildiği görülmüştü.

Neredeyse tüm OİHA hastalarında ilk seçenek olarak steroid tedavisinin öne çıktığı görülmektedir. Ancak bu tedavi hastaların %20-25'inde kalıcı yanıt sağlamaktadır. Hastalar ikinci sıra tedavilere ihtiyaç vardır. İkinci sıra tedavilerde en fazla öne çıkan tedavi rituksimabtır. Rituksimab ile yanıt oranları yüksek olarak seyretse bile takiplerinde relaps oranlarının yüksek olduğu görülmüştür. İmmünsüpresif tedavilerin hala tercih edildiği gösterilmiştir.

Splenektominin olası artmış enfeksiyon ve ölüm riski de göz önüne alındığında kılavuzlarda önerildiği gibi steroid sonrası splenektomi öncesinde rituksimab tedavisinin tercih edilebilir.

OİHA, TE olay açısından artmış risk faktörüdür. Özellikle hastanede yatışı ve ASKH'ın OİHA hastalarında TE olay gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterildi. Riskli durumlarda OİHA hastalarında profilaksi açısından değerlendirilebilir.

Sonuç olarak, OİHA'lerin yönetimine dair uzlaşi raporları yayınlanmış olsa da klinik olarak çok heterojen kalır, bazı vakalar relaps/refrakter olabilir ve ölümcül seyredebilir. Bu nedenle relaps/refrakter vakalar yeni tedaviler açısından deneyimli merkezlerde takip edilmelidir. Tedavi yanıtlarının değerlendirilmesi için prospektif randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

9. KAYNAKLAR

1. 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*. 2014;124(19):2930-6.
2. Jager U, Barcellini W, Broome CM, Gertz MA, Hill A, Hill QA, et al. Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults: Recommendations from the First International Consensus Meeting. *Blood Rev*. 2020;41:100648.
3. Wilma Barcellini JGBF. Autoimmune hemolytic anemia in adults: primary risk factors and diagnostic procedures. *Expert Review of Hematology*. 2020;1747:4086.
4. Hansen DL, Moller S, Andersen K, Gaist D, Frederiksen H. Increasing Incidence and Prevalence of Acquired Hemolytic Anemias in Denmark, 1980-2016. *Clin Epidemiol*. 2020;12:497-508.
5. Petz LD. Review: evaluation of patients with immune hemolysis. *Immunohematology*. 2004;20(3):167-76.
6. Berentsen S, Hill A, Hill QA, Tvedt THA, Michel M. Novel insights into the treatment of complement-mediated hemolytic anemias. *Ther Adv Hematol*. 2019;10:2040620719873321.
7. Barcellini W, Fattizzo B. How I treat warm autoimmune hemolytic anemia. *Blood*. 2021;137(10):1283-94.
8. Hansen DL, Berentsen S, Fattizzo B, Hansen PL, Barcellini W, Frederiksen H. Seasonal variation in the incidence of cold agglutinin disease in Norway, Denmark, and Italy. *Am J Hematol*. 2021.
9. Berentsen S, Barcellini W, D'Sa S, Randen U, Tvedt THA, Fattizzo B, et al. Cold agglutinin disease revisited: a multinational, observational study of 232 patients. *Blood*. 2020;136(4):480-8.
10. Berentsen S. New Insights in the Pathogenesis and Therapy of Cold Agglutinin-Mediated Autoimmune Hemolytic Anemia. *Front Immunol*. 2020;11:590.
11. Berentsen S, Randen U, Tjonnfjord GE. Cold agglutinin-mediated autoimmune hemolytic anemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2015;29(3):455-71.

12. Berentsen S, Barcellini W, D'Sa S, Randen U, Tvedt THA, Fattizzo B, et al. Cold agglutinin disease revisited: a multinational, observational study of 232 patients. *Blood*. 2020;136(4):480-8.
13. Randen U, Trøen G, Tierens A, Steen C, Warsame A, Beiske K, et al. Primary cold agglutinin-associated lymphoproliferative disease: a B-cell lymphoma of the bone marrow distinct from lymphoplasmacytic lymphoma. *Haematologica*. 2014;99(3):497-504.
14. Parker V, Tormey CA. The Direct Antiglobulin Test: Indications, Interpretation, and Pitfalls. *Arch Pathol Lab Med*. 2017;141(2):305-10.
15. Audia S, Grienay N, Mounier M, Michel M, Bonnotte B. Evans' Syndrome: From Diagnosis to Treatment. *J Clin Med*. 2020;9(12).
16. Fattizzo B, Michel M, Giannotta JA, Hansen DL, Arguello M, Sutto E, et al. Evans syndrome in adults: an observational multicenter study. *Blood Adv*. 2021;5(24):5468-78.
17. Solari D, Alberio L, Ribi C, Grandoni F, Stalder G. Autoimmune Hemolytic Anemia and Pulmonary Embolism: An Association to Consider. *TH Open*. 2021;5(1):e8-e13.
18. Pamphilon DH, Scott ML. Robin Coombs: his life and contribution to haematology and transfusion medicine. *Br J Haematol*. 2007;137(5):401-8.
19. Fung M GB, Hillyer CD, Westhoff CM. The Technical Manual. 18th ed Bethesda, 2014. p. 427.
20. Rumsey DH, Ciesielski DJ. New protocols in serologic testing: a review of techniques to meet today's challenges. *Immunohematology*. 2000;16(4):131-7.
21. Swiecicki PL, Hegerova LT, Gertz MA. Cold agglutinin disease. *Blood*. 2013;122(7):1114-21.
22. Bendix BJ, Tauscher CD, Bryant SC, Stubbs JR, Jacob EK. Defining a reference range for cold agglutinin titers. *Transfusion*. 2014;54(5):1294-7.
23. Hill QA, Hill A, Berentsen S. Defining autoimmune hemolytic anemia: a systematic review of the terminology used for diagnosis and treatment. *Blood Adv*. 2019;3(12):1897-906.
24. Berentsen S. How I manage patients with cold agglutinin disease. *Br J Haematol*. 2018;181(3):320-30.
25. Liesveld JL, Rowe JM, Lichtman MA. Variability of the erythropoietic response in autoimmune hemolytic anemia: analysis of 109 cases. *Blood*. 1987;69(3):820-6.

26. Mangan KF, Besa EC, Shadduck RK, Tedrow H, Ray PK. Demonstration of two distinct antibodies in autoimmune hemolytic anemia with reticulocytopenia and red cell aplasia. *Exp Hematol*. 1984;12(10):788-93.
27. Shih AW, McFarlane A, Verhovsek M. Haptoglobin testing in hemolysis: measurement and interpretation. *Am J Hematol*. 2014;89(4):443-7.
28. Delanghe J, Langlois M, De Buyzere M. Congenital anhaptoalbuminemia versus acquired hypohaptoalbuminemia. *Blood*. 1998;91(9):3524.
29. Gozzelino R, Jeney V, Soares MP. Mechanisms of cell protection by heme oxygenase-1. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2010;50:323-54.
30. Birgens H, Frederiksen H, Hasselbalch HC, Rasmussen IH, Nielsen OJ, Kjeldsen L, et al. A phase III randomized trial comparing glucocorticoid monotherapy versus glucocorticoid and rituximab in patients with autoimmune haemolytic anaemia. *Br J Haematol*. 2013;163(3):393-9.
31. Hill QA, Stamps R, Massey E, Grainger JD, Provan D, Hill A, et al. The diagnosis and management of primary autoimmune haemolytic anaemia. *Br J Haematol*. 2017;176(3):395-411.
32. Berentsen S, Barcellini W. Autoimmune Hemolytic Anemias. *N Engl J Med*. 2021;385(15):1407-19.
33. 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*. 2014;89(9):E150-5.
34. Michel M, Terriou L, Roudot-Thoraval F, Hamidou M, Ebbo M, Le Guenno G, et al. A randomized and double-blind controlled trial evaluating the safety and efficacy of rituximab for warm auto-immune hemolytic anemia in adults (the RAIHA study). *Am J Hematol*. 2017;92(1):23-7.
35. Murakhovskaya I. Rituximab Use in Warm and Cold Autoimmune Hemolytic Anemia. *J Clin Med*. 2020;9(12).
36. Reynaud Q, Durieu I, Dutertre M, Ledochowski S, Durupt S, Michallet AS, et al. Efficacy and safety of rituximab in auto-immune hemolytic anemia: A meta-analysis of 21 studies. *Autoimmun Rev*. 2015;14(4):304-13.

37. Pignon JM, Poirson E, Rochant H. Danazol in autoimmune haemolytic anaemia. *Br J Haematol.* 1993;83(2):343-5.
38. Fattizzo B, Michel M, Zaninoni A, Giannotta J, Guillet S, Frederiksen H, et al. Efficacy of recombinant erythropoietin in autoimmune hemolytic anemia: a multicenter international study. *Haematologica.* 2021;106(2):622-5.
39. Patel NY, Chilsen AM, Mathiason MA, Kallies KJ, Bottner WA. Outcomes and complications after splenectomy for hematologic disorders. *Am J Surg.* 2012;204(6):1014-9; discussion 9-20.
40. Thomsen RW, Schoonen WM, Farkas DK, Riis A, Fryzek JP, Sørensen HT. Risk of venous thromboembolism in splenectomized patients compared with the general population and appendectomized patients: a 10-year nationwide cohort study. *J Thromb Haemost.* 2010;8(6):1413-6.
41. Flores G, Cunningham-Rundles C, Newland AC, Bussel JB. Efficacy of intravenous immunoglobulin in the treatment of autoimmune hemolytic anemia: results in 73 patients. *Am J Hematol.* 1993;44(4):237-42.
42. Wouters D, Stephan F, Strengers P, de Haas M, Brouwer C, Hagenbeek A, et al. C1-esterase inhibitor concentrate rescues erythrocytes from complement-mediated destruction in autoimmune hemolytic anemia. *Blood.* 2013;121(7):1242-4.
43. Hofmann K, Clauser AK, Manz RA. Targeting B Cells and Plasma Cells in Autoimmune Diseases. *Front Immunol.* 2018;9:835.
44. MacIsaac J, Siddiqui R, Jamula E, Li N, Baker S, Webert KE, et al. Systematic review of rituximab for autoimmune diseases: a potential alternative to intravenous immune globulin. *Transfusion.* 2018;58(11):2729-35.
45. Rosenberg AS, Pariser AR, Diamond B, Yao L, Turka LA, Lacana E, et al. A role for plasma cell targeting agents in immune tolerance induction in autoimmune disease and antibody responses to therapeutic proteins. *Clin Immunol.* 2016;165:55-9.
46. Chen M, Zhuang J, Yang C, Zhang L, Wang W, Cai H, et al. Rapid response to a single-dose rituximab combined with bortezomib in refractory and relapsed warm autoimmune hemolytic anemia. *Ann Hematol.* 2020;99(5):1141-3.
47. Ames PRJ, Jeffrey S. Bortezomib and rituximab in multiply relapsed primary warm autoimmune hemolytic anemia. *Ann Hematol.* 2021;100(9):2415-6.

48. Pasquale R, Giannotta JA, Barcellini W, Fattizzo B. Bortezomib in autoimmune hemolytic anemia and beyond. *Ther Adv Hematol*. 2021;12:20406207211046428.
49. Zaninoni A, Giannotta JA, Galli A, Artuso R, Bianchi P, Malcovati L, et al. The Immunomodulatory Effect and Clinical Efficacy of Daratumumab in a Patient With Cold Agglutinin Disease. *Front Immunol*. 2021;12:649441.
50. Rieger MJ, Stolz SM, Ludwig S, Benoit TM, Bissig M, Widmer CC, et al. Daratumumab in rituximab-refractory autoimmune haemolytic anaemia. *Br J Haematol*. 2021;194(5):931-4.
51. Jain A, Gupta DK. Daratumumab for refractory warm autoimmune hemolytic anemia. *Ann Hematol*. 2021;100(5):1351-3.
52. Cooling L, Hugan S. Daratumumab in combination with standard treatment for autoimmune hemolytic anemia in a pediatric patient. *Transfusion*. 2019;59(12):3801-2.
53. Schuetz C, Hoenig M, Moshous D, Weinstock C, Castelle M, Bendavid M, et al. Daratumumab in life-threatening autoimmune hemolytic anemia following hematopoietic stem cell transplantation. *Blood Adv*. 2018;2(19):2550-3.
54. Berentsen S, Randen U, Oksman M, Birgens H, Tvedt THA, Dalgaard J, et al. Bendamustine plus rituximab for chronic cold agglutinin disease: results of a Nordic prospective multicenter trial. *Blood*. 2017;130(4):537-41.
55. Barbara DW, Mauermann WJ, Neal JR, Abel MD, Schaff HV, Winters JL. Cold agglutinins in patients undergoing cardiac surgery requiring cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2013;146(3):668-80.
56. Berentsen S, Randen U, Vågan 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.
57. Rossi G, Gramegna D, Paoloni F, Fattizzo B, Binda F, D'Adda M, et al. Short course of bortezomib in anemic patients with relapsed cold agglutinin disease: a phase 2 prospective GIMEMA study. *Blood*. 2018;132(5):547-50.
58. Röth A, Barcellini W, D'Sa S, Miyakawa Y, Broome CM, Michel M, et al. Sutimlimab in Cold Agglutinin Disease. *N Engl J Med*. 2021;384(14):1323-34.
59. Berentsen S, Ulvestad E, Langholm R, Beiske K, Hjorth-Hansen H, Ghanima W, et al. Primary chronic cold agglutinin disease: a population based clinical study of 86 patients. *Haematologica*. 2006;91(4):460-6.

60. Berentsen S, Tjonnfjord GE. Diagnosis and treatment of cold agglutinin mediated autoimmune hemolytic anemia. *Blood Rev.* 2012;26(3):107-15.
61. Schreiber AD, Herskovitz BS, Goldwein M. Low-titer cold-hemagglutinin disease. Mechanism of hemolysis and response to corticosteroids. *N Engl J Med.* 1977;296(26):1490-4.
62. Baek SW, Lee MW, Ryu HW, Lee KS, Song IC, Lee HJ, et al. Clinical features and outcomes of autoimmune hemolytic anemia: a retrospective analysis of 32 cases. *Korean J Hematol.* 2011;46(2):111-7.
63. Gutierrez Jomarron I, Lopez Rubio M, Morado Arias M, Arrizabalaga B, de la Iglesia S, Beneitez D, et al. Autoimmune haemolytic anaemias: A retrospective study of 93 patients. *Med Clin (Barc).* 2020;154(9):331-7.
64. Gehrs BC, Friedberg RC. Autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol.* 2002;69(4):258-71.
65. Zanella A, Barcellini W. Treatment of autoimmune hemolytic anemias. *Haematologica.* 2014;99(10):1547-54.
66. 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.* 2004;103(8):2925-8.
67. 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.* 2012;119(16):3691-7.
68. Barcellini W, Zaja F, Zaninoni A, Imperiali FG, Di Bona E, Fattizzo B, et al. Sustained response to low-dose rituximab in idiopathic autoimmune hemolytic anemia. *Eur J Haematol.* 2013;91(6):546-51.
69. Fattizzo B, Zaninoni A, Pettine L, Cavallaro F, Di Bona E, Barcellini W. Low-dose rituximab in autoimmune hemolytic anemia: 10 years after. *Blood.* 2019;133(9):996-8.
70. Go RS, Winters JL, Kay NE. How I treat autoimmune hemolytic anemia. *Blood.* 2017;129(22):2971-9.
71. Chertkow G, Dacie JV. Results of splenectomy in auto-immune haemolytic anaemia. *Br J Haematol.* 1956;2(3):237-49.

72. Akpek G, McAneny D, Weintraub L. Comparative response to splenectomy in Coombs-positive autoimmune hemolytic anemia with or without associated disease. *Am J Hematol.* 1999;61(2):98-102.
73. Thomsen RW, Schoonen WM, Farkas DK, Riis A, Jacobsen J, Fryzek JP, et al. Risk for hospital contact with infection in patients with splenectomy: a population-based cohort study. *Ann Intern Med.* 2009;151(8):546-55.
74. Ho G, Brunson A, Keegan THM, Wun T. Splenectomy and the incidence of venous thromboembolism and sepsis in patients with autoimmune hemolytic anemia. *Blood Cells Mol Dis.* 2020;81:102388.
75. Howard J, Hoffbrand AV, Prentice HG, Mehta A. Mycophenolate mofetil for the treatment of refractory auto-immune haemolytic anaemia and auto-immune thrombocytopenia purpura. *Br J Haematol.* 2002;117(3):712-5.
76. Fattizzo B, Zaninoni A, Gianelli U, Zanella A, Cortelezzi A, Kulasekararaj AG, et al. Prognostic impact of bone marrow fibrosis and dyserythropoiesis in autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol.* 2018;93(4):E88-E91.
77. Barcellini W. New Insights in the Pathogenesis of Autoimmune Hemolytic Anemia. *Transfus Med Hemother.* 2015;42(5):287-93.
78. Ruggeri M, Rodeghiero F. Thrombotic risk in patients with immune haemolytic anaemia. *Br J Haematol.* 2016;172(1):144-6.
79. L'Acqua C, Hod E. New perspectives on the thrombotic complications of haemolysis. *Br J Haematol.* 2015;168(2):175-85.
80. Ungprasert P, Tanratana P, Srivali N. Autoimmune hemolytic anemia and venous thromboembolism: A systematic review and meta-analysis. *Thromb Res.* 2015;136(5):1013-7.