



T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
DR. BEHÇET UZ ÇOCUK HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI EĞİTİM KLİNİĞİ

OTOİMMUN HEMOLİTİK ANEMİLİ HASTALARDA
STEROİD TEDAVİSİNE YANIT SÜRESİNİN
PROGNOZA ETKİSİ

Dr. Seranay Çetinoğlu

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İZMİR / 2020



T. C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
DR. BEHÇET UZ ÇOCUK HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

OTOİMMUN HEMOLİTİK ANEMİLİ HASTALARDA
STEROİD TEDAVİSİNE YANIT SÜRESİNİN
PROGNOZA ETKİSİ

Dr. Seranay Çetinoğlu

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Yeşim Oymak

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İZMİR / 2020

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
KISALTMALAR	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Otoimmün Hemolitik Anemi.....	3
2.1.1. Prevelans.....	3
2.1.2. Etiyoloji ve Patogenez.....	4
2.1.2.1. Sıcak Etkili Antikorlar	5
2.1.2.2. Soğuk Etkili Antikorlar.....	5
2.1.3. Klinik Ve Laboratuvar Bulguları.....	6
2.1.4. İmmün Hemolitik Anemilerin Sınıflandırılması.....	9
2.1.4.1. Sıcak Tip Otoimmün Hemolitik Anemiler.....	11
2.1.4.1.1. İdiyopatik Sıcak OİHA.....	12
2.1.4.1.2. Sekonder Sıcak OİHA.....	13
2.1.4.1.2.1. Evans Sendromu.....	14
2.1.4.1.2.2. Sistemik Lupus Eritamatozus.....	15
2.1.4.1.2.3. İlaç ilişkili sıcak OİHA.....	15
2.1.4.1.2.4. Malignite İlişkili Sıcak OİHA.....	16
2.1.5.1.2.5. Viral Enfeksiyonlar.....	16
2.1.4.2. Soğuk Tip Otoimmün Hemolitik Anemi.....	17
2.1.4.3. Paroksizmal Soğuk Hemoglobinüri.....	18
2.2. Tedavi	19
2.2.1. Sıcak Tip Otoimmün Hemolitik Anemi Tedavisi.....	19
2.2.2. Soğuk-tip Otoimmün Hemolitik Anemi Tedavisi.....	21

3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1 Hasta Özellikleri ve Çalışma Protokolü	23
3.2 İstatiksel Analiz.....	24
3.3 Etik Kurul.....	24
3.4 Çalışma Tasarımı ve Benzerlik Oranı.....	24
3.5 Çıkar Çatışması.....	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	39
6. ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI	44
7. SONUÇLAR	45
8. KAYNAKLAR	46
9. ÖZGEÇMİŞ	50
10. EKLER	52
EK 1. STROBE KILAVUZU KONTROL LİSTESİ	52

TEŞEKKÜR

Bilgi ve tecrübeleri ile iyi bir çocuk hekimi olabilmem için emek veren Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları Ve Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi tüm saygıdeğer öğretim üyelerine, Tez çalışmamın yürütülmesinde sabırla yol gösterici olan, yoğun çalışma temposu içerisinde bana değerli vaktini ayıran, kıymetli bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım tez danışmanım Sayın Doç Dr Yeşim OYMAK'a, Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli uzman, asistan doktor ve hemşire arkadaşlarıma,

Çalışmam esnasında desteklerini esirgemeyen İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları Ve Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi Çocuk Hematoloji Bilim Dalı Hocaları ve çalışanlarına

Çalışmaya katılmayı kabul eden tüm çocuk hastalarımıza ve ailelerine, Hayatımın ilk gününden itibaren her an yanımdaki en büyük desteğim olan, özellikle zor çalışma dönemimde beni hiç yalnız bırakmayan, varlıklarını, sevgilerini ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim çok değerli annem Şeyda ÇETİNOĞLU, babam Mesut ÇETİNOĞLU ve kardeşim Sedef ÇETİNOĞLU'na sevgi, saygı ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Seranay ÇETİNOĞLU

Ekim 2020

KISALTMALAR

AHG: Antihuman globülin

ALPS: Otoimmün lenfoproliferatif sendrom

CMV: Sitomegalovirüs

CTLA4: T lymphocyte associated protein 4

CVID: Common variable immunodeficiency

DAT: Direkt antiglobulin testi

DOCK-8: Deducator of cytokines 8

EM: Enfeksiyöz mononükleozis

ES: Evans Sendromu

Hb: Hemoglobin

HIV: Human Immunodeficiency Virus

Ig: İmmunglobulin

IL: İnterlökin

IVIG: İntravenöz immunoglobulin

İTP: İmmun trombositopenik purpura

KLL: Kronik lenfositik lösemi

LDH: Laktat dehidrogenaz

LRBA: Lipopolysaccharide responsive and beige-like anchor

MCHC: Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration

MCV: Mean Corpuscular Volume

OİHA: Otoimmün hemolitik anemi

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PI3KD: Activated phosphoinositide3 kinase d

PNP: Pürin nükleosid fosforilaz

SLE: Sistemik lupus eritematosus

STAT: Signal transducer and activator of transcription

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Otoimmün hemolitik anemi tanısı sırasında önerilen laboratuvar tetkikleri

Tablo 2. Otoimmun hemolitik aneminin sınıflandırılması

Tablo 3. Sıcak tip otoimmun hemolitik aneminin sekonder nedenleri

Tablo 4. Otoimmün hemolitik anemi ile ilişkili olduğu sıklıkla bildirilen ilaçlar

Tablo 5. Otoimmün hemolitik aneminin laboratuvar bulguları ve patofizyolojisi

Tablo 6. Çalışma grubunun demografik özellikleri

Tablo 7. Akraba evliliği ile kardeş öyküsünün karşılaştırılması

Tablo 8. Sıcak tip otoimmun hemolitik anemi sınıflamasına göre hastaların dağılımı

Tablo 9. Hastaların tanı anındaki laboratuvar bulguları

Tablo 10. Hastaların sıcak immün hemolitik anemi tipine göre DAT pozitifliklerinin değerlendirilmesi

Tablo 11. Lenfosit alt gruplarının değerlendirilmesi

Tablo 12. Tanı anında eritrosit süspansiyonu verilen ve verilmeyen hastaların tanı anındaki Hb değerlerinin karşılaştırılması

Tablo 13. Tanı sırasında tedavi seçimine göre grupların laboratuvar parametreleri açısından karşılaştırılması

Tablo 14. Birinci sıra tedavi ile remisyonda olan hastalar ile nüks eden hastaların tanı anındaki laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 15. Birinci sıra tedavi seçimine göre grupların hastalık nüksü açısından karşılaştırılması

Tablo 16. Birinci sıra tedavi seçiminde steroid kullanılan grupların steroid doz azaltmaya başlama süresi açısından karşılaştırılması

Tablo 17. Tanı sırasında steroid kullanılan hastalarda nüks eden ve nüks etmeyenlerin steroid doz azaltmaya başlama sürelerinin karşılaştırılması

Tablo 18. İdiyopatik ve sekonder sıcak tip otoimmün hemolitik anemilerin nüks açısından karşılaştırılması

Tablo 19. Steroid yanıtı, ikinci ve sonraki nükslerde verilen tedavi ajanlarının doz ve yanıt süreleri

ŞEKİLLER LİSTESİ

Resim 1. Sıcak tip OİHA periferik kan yayması

Resim 2. Soğuk aglütinin hastalığı periferik kan yayması

Şekil 1. Direk antiglobulin testi

Şekil 2. Hastaların tanı anındaki immünglobulin değerleri

Şekil 3. Tanı sırasında hastaların birinci sıra tedavi seçimleri ve tedaviye yanıt durumları

Şekil 4. Steroid tedavisine yanıt alınamayan hastalarda verilen tedavi ajanları ve splenektomi durumları

ÖZET

Amaç: Otoimmün hemolitik anemi eritrosit yüzey membranına bağlanan otoantikorların yol açtığı erken eritrosit yıkımı ile karakterize bir hastalıktır. Çocuklarda otoimmün hemolitik anemi tedavi protokolleri ve yanıtları ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu araştırmada otoimmün hemolitik anemi tanısı ile izlenen hastaların steroid tedavisine yanıtlarının değerlendirilmesi ve tekrarlayan otoimmün hemolitik anemi tanılı hastalarda steroid dışı rejimlerin tedavi etkileri ile hastalığın tekrar etmesinde rol oynayabilecek etiyolojik faktörlerin araştırılması amaçlanmaktadır.

Gereç ve yöntem: Çalışma gözlemsel, retrospektif bir çalışma olarak planlandı . Çalışmaya 1997 -2019 yılları arasında S.B.Ü İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi Hematoloji Kliniğinde sıcak tip otoimmün hemolitik anemi tanısı alan 1 ay ve 18 yaş aralığındaki hastalar dahil edildi. Hastaların demografik özellikleri ve tanı sırasındaki laboratuvar bulguları kaydedildi. Hastalara tanı sırasında uygulanan ilk tedavi seçenekleri ve izlemde nüks edenler ile refrakter olanlarda uygulanan tedavi seçenekleri sınıflandırıldı. Öyküde ilaç kullanımı olması, altta yatan immun yetmezlik olması ve tanı sırasında tercih edilen tedaviye göre hastalar gruplandırıldı. Eşlik eden immun yetmezlik veya ek hastalık bulunan hastalar sekonder OİHA, diğer hastalar ise idiyopatik OİHA olarak sınıflandırıldı. Hastalığın nüks etmesi açısından gruplar arasındaki farklılık değerlendirildi. Ayrıca idiyopatik ve sekonder otoimmün hemolitik anemi grupları da nüks açısından karşılaştırıldı.

Bulgular: Değerlendirmeye alınan 39 hastanın %41'i (n=16) kız, %59'ü (n=23) erkekti. Tanı sırasında tedavi seçiminde 6 hastaya IVIG, 17 hastaya steroid, 15 hastaya IVIG + steroid kombine tedavisi uygulanmıştı. Hastalardan biri tedavisiz izlem ile takip edildi. Bir ay içinde hastaların 19 (%48,7)'u tam yanıtı, 19 (%48,7)'u parsiyel yanıtı, bir hasta (%2,6) ise yanıtıydı. Birinci sıra tedavi sonrası nüks eden 20 (%51,2) hasta oldu. Birinci sıra tedavi seçiminde IVIG, steroid veya hem IVIG hem steroid tercih edilen 3 grup hasta arasında nüks açısından anlamlı fark saptanmadı (p=0,128). Sekonder sıcak tip otoimmün hemolitik anemili hastalarda nüks oranı daha yüksek saptandı (p<0,001). Remisyonda kalan ve nüks eden hastalar arasında steroid dozunu azaltma hızı açısından fark saptanmadı. Ayrıca tanı sırasındaki tedavide IVIG kullanımının prognostik önemi olmadığı görüldü.

Sonuç: Bu çalışmada birinci basamak tedavide steroid kullanımında steroid tipinden bağımsız olarak %90'ın üzerinde yanıt alındığı görüldü. Ayrıca çocuk hastalarda çok fazla deneyim bulunmayan rituximab, siklosporin, sirolimus ve danazol tedavileri ile ilgili yanıtların değerlendirilmesinin bu alanda önemli katkı sağladığını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: hemolitik anemi, coombs testi, otoimmün



ABSTRACT

Introduction and Aim:

Autoimmune hemolytic anemia is a disease characterized by premature erythrocyte destruction (hemolysis) caused by autoantibodies that bind to the erythrocyte surface membrane.

There are limited number of studies on autoimmune hemolytic anemia treatment protocols and responses in children. In this study, we aimed to assess the treatment responses of children with warm autoimmune hemolytic anemia.

Materials &Methods:

In this retrospective and observational study, patients who diagnosed with warm autoimmune hemolytic anemia between 1997 –2019 in Dr. Behcet Uz Pediatric Diseases and Surgery Training and Research Hospital were evaluated. Demographic characteristics of patients, history of transfusion, drug usage and laboratory findings were recorded. Patients with immunodeficiency or additional disease were classified as secondary autoimmune hemolytic anemia, and the other patients as idiopathic. First-line treatments applied to patients at diagnosis and second and third-line treatments applied to patients with relapse during follow-up were classified. The difference between first-line treatment groups from the point of relapse was evaluated. In addition, idiopathic and secondary autoimmune hemolytic anemia groups were compared from the point of relapse.

Results: Of the included 39 patients, 16 (41 %) were female. At the time of diagnosis, 6 patients received IVIG, 17 patients received steroids and 15 patients IVIG + steroid combined therapy in first-line treatment. One patient was followed up without treatment. After one month follow-up, 19 (48.7%) of the patients had complete response, 19 (48.7%) had partial response, and one patient (2.6%) was unresponsive. Twenty (51.2%) patients relapsed after first line treatment. There was no difference in relapse between the 3 groups of patients who were preferred IVIG, steroid or both IVIG and steroid in the first line treatment. The recurrence rate was higher in patients with secondary warm autoimmune hemolytic anemia. There was no difference found between patients in remission and relapses in the duration of steroid dose reduction. In addition, it was observed that the use of IVIG in first-line therapy has no prognostic significance.

Conclusion:

In this study, it was determined that response was more than 90% with steroids, regardless of type, in the first line treatment. In addition, we think that evaluating the responses of rituximab, cyclosporine, sirolimus and danazol treatments, which are underinvestigated pediatric patients, may make a significant contribution.

Key Words: hemolytic anemia, coombs test, autoimmune

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Otoimmün hemolitik anemi (OİHA) eritrosit yüzey membranına bağlanan otoantikörlerin yol açtığı erken eritrosit yıkımı ile karakterize bir hastalıktır (1). Tahmini görülme sıklığı 100.000 kişide 1 ile 3 vaka ile nispeten nadir bir hastalıktır (2).

Normal bir eritrositin ortalama ömrü 115 gündür (3). Hemoliz, azalmış eritrosit ömrü olarak tanımlanır ve hücrenin doğal bir anormalliği (intrinsik) veya ekstrinsik faktör veya her ikisinin kombinasyonu nedeniyle ortaya çıkabilir. Hemoliz artmış eritrosit üretimi ile telafi edilemeyecek bir oranda meydana geldiğinde, hasta hemolitik anemi ile başvurur. Eritrositlerin yıkımı intravasküler veya ekstravasküler olarak retiküloendotelyal sistemde esas olarak dalak ve karaciğer makrofajlarında epizodik, akut veya kronik olabilir. Klinik olarak solukluk, yorgunluk, sarılık, koyu renkli idrar, splenomegali; kronik vakalarda safra taşı ve kolesistit görülür. Laboratuvar bulguları anemi, retikülositoz, indirekt bilirubin ve laktat dehidrojenaz (LDH) yüksekliği, serum alanin aminotransferazdan daha yüksek serum aspartat aminotransferaz ve azalmış haptoglobindir (4).

Otoimmün hemolitik anemi otoantikörlerin optimal bağlanma sıcaklığına ve reaktivitesine göre sınıflandırılmaktadır. Çocuklarda sıklıkla sıcak tip otoimmün hemolitik anemi görülmektedir (5). Soğuk tip otoimmün hemolitik anemi ve paroksizmal soğuk hemoglobinüri vakaların geri kalanını oluşturmaktadır (6) .

Otoimmün hemolitik anemi vakalarının yaklaşık yarısında spesifik bir etyoloji saptanamayıp primer (idiyopatik) olarak tanımlanmaktadır. Lenfoproliferatif hastalıklar, malignansiler , enfeksiyonlar , romatolojik hastalıklar ve ilaçlara bağlı gelişen otoimmün hemolitik anemili vakalar ise sekonder olarak tanımlanmaktadır (4, 7).

Kortikosteroidler sıcak tip otoimmün hemolitik anemi tedavisinin temelini oluşturmaktadır. Kortikosteroid tedavisine yanıtız ve nüks gelişen hastalarda ikinci basamak tedaviler önerilmektedir (8). Hastalar ikinci basamak tedavilere başlamadan önce immundisregülasyon ve immun yetmezlik açısından değerlendirilmelidir (9).

Çocuklarda otoimmün hemolitik anemi tedavi protokolleri ve yanıtları ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu araştırmada otoimmün hemolitik anemi tanısı ile izlenen hastaların steroid tedavisine yanıtlarının değerlendirilmesi ve tekrarlayan otoimmün hemolitik anemi tanılı hastalarda steroid dışı rejimlerin tedavi etkileri ile hastalığın tekrar etmesinde rol oynayabilecek etiyolojik faktörlerin araştırılması amaçlanmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Otoimmün Hemolitik Anemi

Otoimmün hemolitik anemi eritrosit yüzey antijenlerine karşı gelişen kompleman aktivasyonu olan veya olmayan otoantikörler tarafından tetiklenen eritrosit yıkımı ile karakterizedir (3, 10).

Direkt antiglobulin testi (DAT) ile eritrosit yüzeyinde bulunan otoantikörler ve/veya kompleman fragmanları saptanır. Direkt antiglobulin testi tipik olarak iki adımda gerçekleştirilir. İlk olarak, anti-immünoglobulin G (Ig G) ve anti-komplemanın her ikisini de içeren polispesifik reaktif antikor kaplı hücreleri aglütine etmek için kullanılır. İkinci adımda monospesifik reaktifler anti-IgG ve anti-C3d (anti-C3b, anti-C4b ve anti-C4d reaktifleri de kullanılabilir.) sırasıyla IgG ve komplemanları saptamak için ayrı ayrı kullanılır. Anti-C3d'nin tek başına bağlanması sıklıkla bağlı Ig M'yi gösterir (11, 12).

Otoimmün hemolitik anemi, otoantikörlerin hastanın eritrositlerine in vivo bağlandığı optimum sıcaklığa göre sıcak tip otoimmün hemolitik anemi, soğuk tip otoimmün hemolitik anemi ve paroksizmal soğuk hemoglobinüri olarak 3 ana tipte sınıflandırılır (13).

Sıcak tip otoimmün hemolitik anemi vücut sıcaklığında optimal antikor-antijen etkileşimi (37 ° C) gösteren poliklonal Ig G yapısında otoantikör aracılığı ile gelişmektedir. Çocuklarda nadir görülen soğuk tip otoimmün hemolitik anemi, kompleman aktivasyonunu tetikleyen Ig M pentamerleri neden olur (9).

Paroksizmal soğuk hemoglobinüri, eritrosit yüzey polisakkarit P antijenine karşı gelişen, Donath-Landsteiner olarak bilinen soğukta aktive olan Ig G yapısında otoantikörler aracılığı ile gelişmektedir (14).

2.1.1. Prevelans

Otoimmün hemolitik anemi, 100.000 kişi başına 1 ila 3 insidansı olan nadir bir hastalıktır (15, 16). Sıcak tip otoimmün hemolitik anemi, tüm yetişkin vakaların yaklaşık % 70 ile % 80'ini içeren en yaygın otoimmün hemolitik anemidir. Pediatrik vakaların yaklaşık % 50'sini sıcak tip otoimmün hemolitik anemi oluşturmaktadır (16).

2.1.2. Etiyoloji ve Patogenez

Vakaların yaklaşık yarısında spesifik bir etiyoloji saptanamayıp primer otoimmün hemolitik anemi olarak tanımlanır. Lenfoproliferatif sendromlar, malign hastalıklar, romatolojik hastalıklar, enfeksiyon öyküsü (çoğunlukla viral), ilaç öyküsü (sıklıkla sefalosporinler ve piperasilin) ya da transfüzyon öyküsü olan vakalar sekonder otoimmün hemolitik anemi olarak tanımlanır (1, 7).

Otoantikörler, kompleman sistemi, fagositler, sitotoksik CD8+ T lenfositler ve NK (Naturel Killer) hücreleri antikör bağımlı hücre aracılı sitotoksitede yer alır. B lenfositler, CD4+ T düzenleyici (Treg) lenfositler dahil T lenfositler ve sitokinler sıcak tip otoimmün hemolitik anemi patogenezinde rol oynar. İmmün sistem komponentleri arasında normal etkileşimlerin ihlaline neden olan ve immunolojik toleransı engelleyerek sıcak tip otoimmün hemolitik anemiye yol açan çeşitli mekanizmalar immünolojik yıkımdan sorumlu olarak araştırılmıştır (11, 12, 17).

Virüsler, diğer ekzojen enfeksiyöz ve ilaçlar gibi enfeksiyöz olmayan ajan antijenleri moleküler mimikri sonucu eritrosit yüzey antijenleri ile çapraz reaksiyona girerek otoimmün hemolitik anemiye neden olur. Eritrosit yüzey antijenlerinden en sık Rh proteini daha az sıklıkla glikoporin ve band 3 proteini çapraz reaksiyona girer. Ek olarak, virüsler tarafından tetiklenen B lenfositlerin poliklonal aktivasyonu 'yasak klonların' ortaya çıkmasına ve nadiren konjenital veya edinsel lenfoproliferatif bozukluklara neden olur (4).

CD4+ T helper hücre alt kümeleri, Th1, Th2, Th17 ve Treg hücreler humoral immün sistemi kontrol eder ve self toleransın sağlanmasında ya da kaybedilmesinde kritik role sahiptir. Th17 hücrelerin oransal artışı ile artan interlökin-17 (IL-17) salınımı otoimmün hemolitik anemili hastalarda hastalık aktivitesi ile ilişkili saptanmıştır (18). CD4+ CD25+ Treg hücreleri CD25 reseptörü üzerinden yüksek seviyelerde IL-2 eksprese eder ve transforming growth faktörü- β ve IL-10 salgılar. Doğal olarak meydana gelen Treg hücreler otoreaktif T hücreleri baskılayarak immünolojik self toleransa katkıda bulunur. Otoimmün hemolitik anemili hastalarda Treg hücrelerin azaldığı saptanmıştır (19). Th1, Th2 hücreler ve bu hücrelerin salgıladıkları sitokinler arasındaki dengesizlik etyolojide rol oynayabilir. Th1 hücreler IL-2, IL-12, interferon- γ ve tümör nekroz faktörü- β salgılar ve hücre aracılı immünitede yer alırken, Th2 hücreleri IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13 salgılar ve humoral immünitede yer alır. Otoimmün hemolitik anemili hastalardaki artmış ve

azalmış sitokin seviyeleriyle ilgili veriler çelişkili olmasına rağmen azalmış Th1 hücreler ve belirgin Th2 hücre profili otoimmün hemolitik aneminin patogenezi destekler (13, 17).

İmmünoopatogenetik mekanizmaların daha fazla araştırılması ve anlaşılması ile otoimmün hemolitik aneminin daha etkili ve daha az toksik, hedefe yönelik tedavisi mümkün olacaktır (4).

2.1.2.1. Sıcak Etkili Antikorlar

Sıcak tip otoimmün hemolitik anemide otoantikorlar 37 ° C de eritrositler ile etkileşir. Tipik olarak, sıcak tip otoimmün hemolitik anemide otoantikor özgüllüğü tanımlanamaz; otoantikorlar poliklonaldır ve tüm eritrositler ile reaksiyona girer (20). Eritrosit yıkımı doku makrofajlarının Fc reseptörlerine antikor bağlanması sonucu fagositoz yolu ile ekstravasküler olarak gerçekleşir. Ig G antikor alt tipine (IgG1, IgG3) ve konsantrasyonuna bağlı olarak, antikorlar komplemanı fikse eder ve intravasküler hemolize ve ekstravasküler fagositoza neden olur (21-23). Periferik yaymada mikrosferositler sıklıkla görülmektedir. Polikromazi ve retikülositoz tipiktir ancak çoğu zaman erken dönemde görülmemektedir. Bazen otoantikorların duyarlanması ve geç eritroid öncüllerinin yıkımı sonucu relatif retikülositopeni görülebilir (20).

2.1.2.2. Soğuk Etkili Antikorlar

Soğuk tip otoimmün hemolitik anemi , soğukta eritrositleri aglutine edebilen immunglobulin M yapısındaki otoantikorlar aracılığı ile gelişir (20). Soğuk tip otoimmün hemolitik anemili hastalarda Ig M yapısındaki otoantikorlar kompleman fiksasyon induksiyonu ile eritrositlerin intravasküler hemolizine neden olur.

Otoimmün hemolitik anemilerin yaklaşık % 20 ile % 25'i soğuk aglutinin antikorlarından kaynaklanır. Ig M antikorları poliklonal veya plazmositoid lenfositik lenfomalı Waldenstrom makroglobulinemi gibi bazı hastalarda gözlendiği gibi monoklonal görülebilmektedir. Otoimmün hemolitik anemili hastaların % 8'i hem sıcak Ig G hem de soğuk Ig M antikorlarına sahiptir ve mikst tip otoimmün hemolitik anemiler olarak adlandırılır (24).

Soğuk ilişkili intravasküler hemolizin nadir bir formu, soğukta eritrositlere bağlanan, ancak 37 C ısıtıldığında kompleman lizisini aktive eden Ig G otoantikorları aracılı hemolizdir. Ig G otoantikorları Donath- Landsteiner antikorları olarak

adlandırılmaktadır ve tarihsel olarak sekonder sifiliz hastalarında paroksizmal soğuk hemoglobinüri ile tanımlanmıştır. Günümüzde çocuklarda ve erişkinlerde en sık viral enfeksiyonlar sonrasında görülmektedir. Paroksizmal soğuk hemoglobinüri vakaları; edinilmiş otoimmün hemolitik anemilerin % 1 - %3'ünü oluşturmaktadır (25).

2.1.3. Klinik Ve Laboratuvar Bulguları

Otoimmün hemolitik anemili hastalar oldukça değişken klinik prezentasyona sahip olabilir (26). Hastalar anemi ile ilişkili yorgunluk, halsizlik, efor dispnesi, çarpıntı ve baş dönmesi gibi semptomlar tanımlayabilirler. Ciddi hemolizi olan hastalar solgunluk, sarılık ve koyu renkli idrar yapma ile başvurabilirler (27). Şiddetli olgularda, kalp yetmezliği bulguları görülebilmektedir (9). Semptomlar akut veya sinsi başlangıçlı olabilmektedir. Ciddi hemolizi olan hastalar solgunluk, sarılık ve koyu renkli idrar yapma ile başvurabilirler. Ek olarak, hastalarda splenomegali, hepatomegali ve adenopati görülebilmektedir. Soğuk tip otoimmün hemolitik anemi veya paroksizmal soğuk hemoglobinüri gibi intravasküler hemolizi olan hastalar gross hemoglobinüri ile başvurabilmektedir (27).

Primer ve çoğunlukla sekonder otoimmün hemolitik anemili hastalar ek olarak kilo kaybı, eklem ağrısı, karın ağrısı, göğüs ağrısı gibi semptomlar tanımlayabilir. Venöz tromboembolizm, otoimmün hemolitik aneminin erişkin hastalarda iyi bilinen bir komplikasyondur ve morbidite ve mortalitenin önemli bir nedenidir. Bu nedenle klinisyenler solunum sıkıntısı ve göğüs ağrısı belirtileri olan özellikle erişkin otoimmün hemolitik anemili hastalarda artmış tromboembolik komplikasyon riski nedeniyle pulmoner emboli açısından dikkatli olmalıdırlar (28, 29).

Otoimmün hemolitik anemili hastalarda laboratuvar incelemeleri hastaların hemoglobin, hematokrit değerlerine, aktif hemoliz varlığına ve hemolize karşı kemik iliğinden kompansasyon derecesine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Ortalama korpüsküler hacim (MCV), retikülositoza bağlı olarak yüksek saptanabilir. Retikülosit indeksi genellikle % 3'ten yüksektir, ancak hastaların % 15 ile % 40'ında erken dönemde retikülosit indeksi % 2'den düşük izlenebilmektedir (30, 31).

Kortikosteroid tedavisinin başlamasıyla birlikte hastaların büyük kısmında retikülosit sayısı artar, ancak hastaların % 5- %10 gibi bir kısmında uzamış retikülositopeni görülebilmektedir. Tam kan sayımında hafif lökositoz görülebilir

nadir olarak da nötropeni eşlik edebilmektedir. Evans sendromu olan hastalarda ağır trombositopeni görülebilmektedir (32).

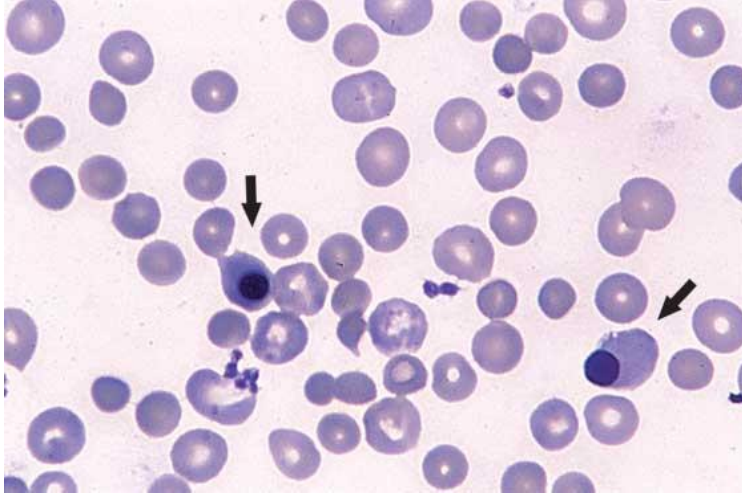
Beklenen diğer laboratuvar bulguları indirekt hiperbilirubinemi , yüksek serum LDH, yüksek plazma serbest hemoglobin ve azalmış haptoglobindir (9). Hastaların % 85'inde haptoglobulin seviyesi 25 mg / dL'nin altına düşmektedir (33). Otoimmün hemolitik anemi tanısı sırasında önerilen laboratuvar tetkikleri Tablo 1'de izlenmektedir.

Tablo 1. Otoimmün hemolitik anemi tanısı sırasında önerilen laboratuvar tetkikleri

✓ Tam kan sayımı ve retikülosit
✓ Periferik kan yayması
✓ Koagülasyon testleri (lupus antikoagülan ve antifosfolipid antikorlar)
✓ Kan grubu
✓ Kemik iliği aspirasyonu (eşlik eden sitopeni veya retikülositopeni varlığında)
✓ BUN, kreatinin, AST, ALT, bilirubin, GGT, haptoglobulin, LDH
✓ Direkt ve indirekt antiglobulin testi
✓ İmmünglobulin G, A, M düzeyleri (2 yaş ve üzerinde ise Ig G alt grupları) (IVIG öncesi)
✓ Lenfosit paneli (IVIG ve steroid tedavisi öncesi)
✓ ANA (IVIG öncesi)
✓ C3, C4, CH50
✓ Mikrobiyal seroloji, kültür, PCR testleri

BUN: Kan üre azotu, AST: Aspartat Aminotransferaz ALT: Alanin Aminotransferaz , GGT: Gama Glutamil Transferaz , LDH: Laktat Dehidrogenaz
IVIG: İntravenöz İmmünglobülin ANA: Anti-Nükleer Antikor C3: Kompleman 3
C4: Kompleman 4 CH50: Hemolitik kompleman aktivite testi
“ (Aladjidi 2011 p.661 Table 5”dan uyarlanmıştır (1).)”

Otoimmün hemolitik anemili hastaların periferik yayma incelemesinde anemi, anizositoz, poikilositoz, polikromazi ve anormal morfolojide sferositler gözlenmektedir (Resim 1) (9).

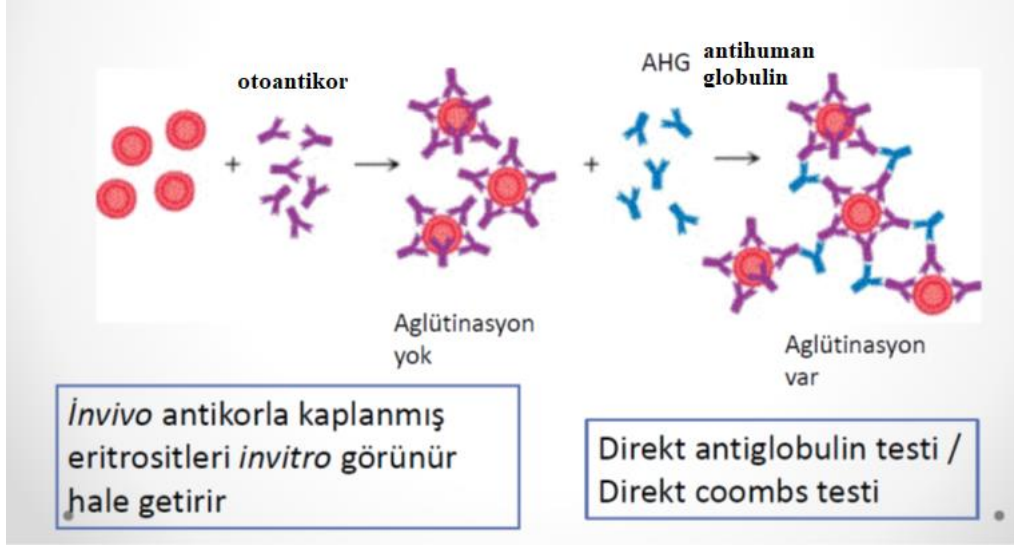


Resim 1. Sıcak tip OİHA periferik kan yayması: Periferik kan yaymasında eritrositlerde polikromazi, sferositoz ve çekirdekli eritrositler görülmektedir.

(Resim 1 <http://hematolojiatlasi.com> adresindeki görseller kullanılarak oluşturuldu.)

Otoimmün hemolitik aneminin diğer hemolitik anemilerden ayırıcı tanısında DAT en önemli testtir (11). Direkt antiglobulin testi pozitifliği immunglobulin G otoantikörlerinin, kompleman C3b otoantikörlerinin veya her ikisinin hastanın eritrositlerine in vivo bağlanması ile oluşmaktadır.

Hasta kanına antihuman globülin (AHG) eklendiğinde eritrosit yüzeyinde otoantikörler bağlıysa eritrositleri biraraya getirerek görünür hale getirir. Sonuç aglütinasyonun şiddetine göre 1-4 arasında pozitiflik olarak raporlanır (Şekil 1).



Şekil 1. Direkt antiglobulin testi

Karaciğer hastalığı ve insan immün yetmezlik virüsü enfeksiyonu gibi bazı durumlarda hemoliz olmaksızın pozitif direkt antiglobulin testi görülebileceği unutulmamalıdır (34). Bu nedenle otoimmün hemolitik aneminin tanısını kesinleştirmede direkt antiglobulin testi sonucu hastanın klinik bulguları ve diğer laboratuvar sonuçları ile bütün olarak değerlendirilmelidir (27).

Direkt antiglobulin testinde yalnızca kompleman C3b varlığı hemolizin soğuk aglütinin veya Donath-Landsteiner IgG tipi otoantikörler ile gerçekleştiğini düşündürür. Hemolizin bu otoantikörlerden kaynaklanıp kaynaklanmadığını belirlemek için kan merkezinde özel bir çalışma yapılarak saptanabilmektedir. Direkt antiglobulin testi negatif sonuçlanan ancak klinik bulguları ve periferik kan yayması hemolitik anemi ile uyumlu hastalarda hemolizin düşük konsantrasyon veya düşük afiniteli IgG, IgA veya monomerik IgM ile gerçekleştiğini kanıtlamak için özel laboratuvar tetkikleri gerekmektedir (35).

2.1.4. İmmün Hemolitik Anemilerin Sınıflandırılması

Otoimmün hemolitik aneminin sıcak tip otoimmün hemolitik anemi, soğuk tip otoimmün hemolitik anemi veya paroksizmal soğuk hemoglobinüri olarak 3 tipi bulunmaktadır (36). Bazı durumlarda laboratuvar bulguları serolojik olarak hem sıcak tip hem de soğuk tip otoimmün hemolitik anemi kriterlerini karşılamaktadır ve mikst

tip otoimmün hemolitik anemi olarak adlandırılmaktadır. İmmun hemolitik aneminin sınıflandırılması Tablo 2 'de görülmektedir.

Tablo 2: İmmun hemolitik anemilerin sınıflandırılması

Otoimmün hemolitik anemiler
Sıcak Tip Otoimmün Hemolitik Anemi <ul style="list-style-type: none">✓ İdiyopatik✓ Sekonder
Soğuk Aglütinin Hastalığı <ul style="list-style-type: none">✓ İdiyopatik✓ -Sekonder
Paroksizmal Soğuk Hemoglobüri <ul style="list-style-type: none">✓ -İdiyopatik✓ -Sekonder
Miks Tip Otoimmün Hemolitik Anemiler
İlaça bağlı immün hemolitik anemiler
İlaçla indüklenen otoimmün hemolitik anemi
İlaç ilişkili otoimmün hemolitik anemi
Allo-antikor ile İndüklenen İmmun Hemolitik Anemi
Yenidoğanın hemolitik hastalığı
Hemolitik transfüzyon reaksiyonu

- "Chou ST, Schreiber AD. Autoimmune hemolytic anemia. In: Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood, 8th ed, Orkin SH, Fisher DE, Look T, et al. (Eds), WB Saunders, Philadelphia 2015 " dan uyarlanmıştır (37).

Sıcak tip otoimmün hemolitik anemi, çocuklarda en yaygın görülen otoimmün hemolitik anemi formudur. Eritrosit antijenlerine karşı genellikle IgG nadiren IgM ya da IgA yapısında otoantikorlar yaklaşık 37 ° C de hemolize neden olmaktadır (36).

Soğuk tip otoimmün hemolitik anemi, çocuklarda sıcak tip otoimmün hemolitik anemiden daha az yaygındır. Tipik olarak soğukta hemolize neden olan IgM yapısındaki otoantikör mevcuttur (38).

Otoimmün hemolitik anemi ayrıca primer veya sekonder olarak kategorize edilmektedir. Sekonder otoimmün hemolitik anemide enfeksiyon, otoimmünite ya da immün yetmezlik gibi altta yatan bir patoloji mevcuttur (6). Sekonder form, otoimmün hemolitik anemili hastaların yaklaşık % 40- % 50'sini oluşturmaktadır (39, 40). Altta yatan patoloji , hasta yönetimini zorlaştırabilmektedir. Bu nedenle tedavi altta yatan patoloji dikkate alınarak düzenlenmelidir (27).

2.1.4.1. Sıcak-Tip Otoimmün Hemolitik Anemiler

Sıcak tip otoimmün hemolitik anemi, genellikle Ig G yapısındaki antikorların eritrositler üzerindeki antijenlere 37 ° C de bağlanması nedeni ile artmış eritrosit yıkımıdır (41). Otoimmün hemolitik anemili pediatrik vakaların yaklaşık % 50'sini sıcak tip otoimmün hemolitik anemi oluşturmaktadır (16). Sıcak tip otoimmün hemolitik anemi vakalarının da yaklaşık yarısı birincil ya da idiyopatik olarak, geri kalanı eşlik eden diğer patolojiler veya ilaçlar nedeniyle sekonder olarak tanımlanmaktadır (Tablo 3) (4).

Tablo 3. Sıcak tip otoimmün hemolitik aneminin sekonder nedenleri

Otoimmün Hastalıklar
<ul style="list-style-type: none">✓ Sistemik lupus eritematozus✓ İnflamatuar bağırsak hastalıkları (Chron hastalığı ve ülseratif kolit)✓ Romatoid artrit✓ Antifosfolipid antikor sendromu✓ Primer biliyer siroz✓ Otoimmün tiroid hastalıkları
İmmün yetmezlik ilişkili Hastalıklar
<ul style="list-style-type: none">✓ Evans sendromu✓ Yaygın değişken immün yetmezlik sendromu✓ Otoimmün lenfoproliferatif sendrom✓ Ig A Eksikliği✓ Post Transplantasyon
Lenfoproliferatif Hastalıklar
<ul style="list-style-type: none">✓ Kronik lenfositik lösemi✓ Hodgkin lenfoma✓ Non Hodgkin lenfoma
Enfeksiyonlar
<ul style="list-style-type: none">✓ Sitomegalovirus✓ Ebstein Barr Virus✓ İnsan İmmün Yetmezlik Virusu✓ Hepatit C✓ Mycoplasma pneumonia✓ Nadiren : Varicella, Rubella, Parvo B19

- "Liebman, H. A., & Weitz, I. C. (2017). Autoimmune Hemolytic Anemia. Medical Clinics of North America, p.353 Box 1"dan uyarlanmıştır (27).

Çocuklarda sıcak tip otoimmün hemolitik anemi hafif veya şiddetli anemi ya da aniden başlayan hayatı tehdit eden bir hastalık olarak ortaya çıkabilir.

Sıcak tip otoimmün hemolitik anemi çocukluk çağında tipik olarak kendini sınırlar. Klinik belirtiler solgunluk, yorgunluk, sarılık, koyu renkli idrar ve splenomegalidir (42).

Sıcak tip otoimmün hemolitik anemide hemoliz doku makrofaj Fc reseptörlerine antikor bağlanması yoluyla eritrosit fagositozu aracılığı ile ekstravasküler olarak gerçekleşir. İmmunglobulin G antikor alt tipine (IgG1, IgG3) ve konsantrasyonuna bağlı olarak, antikorlar komplemanı sabitleyerek hem intravasküler hemolize hem de kompleman C3b reseptörü aracılığı ile ekstravasküler fagositoza neden olabilir (21-23).

Genellikle 37 ° de immunglobulin G1 (kompleman pozitifliği ile birlikte olan ya da olmayan) aracılı direkt antiglobulin testi en iyi tanı testidir. Diğer laboratuvar anormallikleri arasında anemi, retikülositoz, artmış LDH, hiperbilirubinemi ve azalmış haptoglobindir. Periferik kan yaymasında en sık polikromazi, çekirdekli eritrositler, sferositler ve parçalanmış eritrositler görülmektedir (42).

2.1.4.1.1. İdiyopatik Sıcak OİHA

Sıcak tip otoimmün hemolitik anemili vakaların yaklaşık yarısı altta spesifik bir etiyoloji bulunmadığından primer (idiyopatik) olarak adlandırılmaktadır. Lenfoproliferatif sendromlar, maligniteler, romatolojik hastalıklar, enfeksiyonlar, ilaç kullanım öyküsü gibi altta yatan bir neden varlığında sekonder olarak tanımlanmaktadır.

Sitopeni nedeni ile karşımıza çıkan monogenik ve poligenik immün disregülasyon sendromlarının tanımlanmasındaki artış ile birlikte idiyopatik sıcak tip otoimmün hemolitik anemi; gelecek zamanda azalmaya devam edecek gibi görünmektedir. Genetik sekanslama teknolojisindeki gelişmeler immün disregülasyona neden olan defektin tanımlanmasını kolaylaştırmıştır. Bunlar arasında CTLA-4 (T lymphocyte associated protein 4) haplo yetmezliği, LRBA (lipopolysaccharide responsive and beige-like anchor) eksikliği, STAT (signal transducer and activator of transcription) mutasyonu, PI3KD (activated phosphoinositide3-kinase d) sendromu yer almaktadır. Altta yatan moleküler defektlerin saptanması hedefe yönelik tedaviler için gelecek olacaktır (43).

2.1.4.1.2. Sekonder Sıcak OİHA

2.1.4.1.2.1 Evans Sendromu

Sıcak tip otoimmün hemolitik anemi ile eşzamanlı veya ardışık olarak trombositopeni birlikteliği Evans sendromu olarak tanımlanmıştır (32).

Evans sendromunun tanımı, herhangi iki veya üç otoimmün sitopeninin kombinasyonunu kapsamak amacıyla genişletilmiş ve sonuç olarak Evans sendromu defektif B hücrelere karşı otoantikör oluşumu ile birlikte görülen yaygın değişken immün yetmezlik, otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS), primer immün yetmezlik ve diğer immün disregülasyon sendromlarının belirtisi olarak kabul görmüştür (44-46).

Başlangıçta otoimmün hemolitik anemi eşliğinde idiyopatik trombositopenik purpura olarak tanımlanan Evans sendromunun son tanımı birlikte ortaya çıkan veya zamanla gelişen en az iki hücre grubunu etkileyen otoimmün sitopeni olarak tanımlanmıştır. Sitopeni idiyopatik trombositopenik purpura, otoimmün hemolitik anemi veya otoimmün nötroopeniden oluşabilmektedir. Klinik etkilenen hücre grubuna göre değişkenlik göstermekle birlikte genellikle anemi ve mukozal kanamanın kombinasyonudur (32, 43).

Evans sendromu tanısı bir dışlama tanısıdır. Hastalar ortalama 7-8 yaşında ve etkilenen hücre grubuna göre semptomlar ile başvururlar (47, 48).

Evans sendromu için ilk yaklaşım idiyopatik trombositopenik purpura ve otoimmün hemolitik anemi ile benzerdir. Semptomların yönetimini takiben romatolojik hastalıklar, immün yetmezlik ve enfeksiyöz etyolojiler açısından değerlendirme yapılmalıdır(9).

Evans sendromlu hastalarda altta yatan otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS), yaygın değişken immün yetmezlik gibi immünolojik bozukluklar veya sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi otoimmün bozukluklar görülebilmektedir (43). Fizik muayenesinde lenfadenopati ve splenomegali olan hastalarda pozitron emisyon tomografi gibi ileri görüntüleme tetkikleri veya biyopsi maligniteyi dışlama amacı ile değerlendirilmelidir. İnsan immün yetmezlik virüsü testi özellikle adölesanlarda düşünülmelidir (1).

Enfeksiyon veya malignite olmaksızın kontrolsüz lenfositik proliferasyon ile karakterizedir (49). FAS apoptotik yolak kusuru nedeni ile apoptoz mekanizmaları ve aktive lenfosit regülasyonunda problem mevcuttur.

Hastalar sitopeni ile birlikte lenfadenopati, splenomegali ve / veya hepatomegali, artmış malignite riski ile prezente olmaktadır (50, 51).

Yaygın değişken immün yetmezlik sendromu , ES ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. ES hastalarının yaklaşık % 10'unda yaygın değişken immün yetmezlik sendromu görülmektedir ve bu hastaların yarısından fazlası otoimmün sitopeni ile prezente olmaktadır (43). Yaygın değişken immün yetmezlik sendromu olan hastalarda şiddetli veya tedaviye dirençli olabilen enfeksiyonlar görülebilmektedir. Hastaların aşı yanıtları yetersizdir. Yetişkin dönemde başta lenfoma olmak üzere malignite riskinde artış görülmektedir (52).

2.1.4.1.2.2 Sistemik Lupus Eritematozus

Otoimmün hematolojik belirtiler çocukluk çağında başlayan SLE hastalarında sıklıkla görülmektedir (53). Hastalarının yaklaşık % 50'sinde SLE'nin klinik belirtileri görülmesinden aylar önce OİHA ve / veya ITP gelişmektedir (54). Otoimmün hemolitik anemi gelişen SLE hastalarında genellikle Ig G tipinde otoantikolar görülmekle birlikte soğuk tip hemolitik anemiye yol açan IgM tipi antikolar da rapor edilmiştir (55). Otoimmün hemolitik aneminin görüldüğü diğer otoimmün hastalıklar arasında antifosfolipit antikor sendromu, juvenil idiyopatik artrit, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, primer biliyer siroz, otoimmün tiroid hastalıkları ve sjögren sendromu bulunmaktadır (27).

2.1.4.1.2.3 İlaç ilişkili sıcak OİHA

İlaç ilişkili immün hemolitik anemi insidansı yaklaşık 1 milyon vaka / yıldır (56). İmmün hemolizi yaklaşık 150 ilacın indüklediği bildirilmektedir (6). Sefalosporinler; çocuklarda ilaç ilişkili hemolizin % 70 ile en sık nedenidir (10). Hastalar ilaca maruz kaldıktan sonra saatler içinde ciddi kompleman aracılı intravasküler hemoliz ile (örn. seftriakson) veya birkaç ay maruziyeti takiben subakut ekstrasvasküler hemoliz ile başvurabilirler. Sefalosporinler ve diklofenak ilişkili immün hemolitik anemide ölüm oranları % 6-15 olarak bildirilmiştir (56, 57). Tedavide şüpheli ilaç kesilmelidir. Hematolojik iyileşme genellikle 1-2 hafta içinde ortaya çıkar (58). Tanı belirsiz ise ilaç ilişkili antikolar için test yapılarak tanı kesinleştirilebilmektedir (Tablo 4) (6).

Tablo 4. Otoimmün hemolitik anemi ile ilişkili olduğu sıklıkla bildirilen ilaçlar

İLAÇ	ETKİ MEKANİZMASI
Penisilin	Membran emilimi-hapten
Birinci kuşak sefalosporinler	Non-immun protein absorpsiyonu
İkinci ve üçüncü kuşak sefalosporinler	İmmun kompleks
Alfa metil dopa	İlaç ilişkili otoantikör
Fludarabin	İlaç ilişkili otoantikör
Oksaliplatin	İlaç ilişkili otoantikör

- “Liebman, H. A., & Weitz, I. C. (2017). Autoimmune Hemolytic Anemia. Medical Clinics of North America, p.353 Table 2” den aynen alınmıştır (27).

2.1.4.1.2.4. Malignite İlişkili Sıcak OİHA

Otoimmün hemolitik anemi bildirilen hematolojik maligniteler arasında lösemi, Hodgkin ve Hodgkin dışı lenfomalar, myelodisplastik sendrom bulunmaktadır (59). Malignite ilişkili OİHA tanısı aneminin multifaktöriyel olması, LDH’ ın karaciğer fonksiyon bozukluğundan etkilenmesi ve retikülosit yanıtının kemik iliği infiltrasyonu ile önlenmesi nedeni ile karmaşık olabilir (60). Bu nedenle bazı durumlarda kemik iliği biyopsisi değerlendirmenin bir parçası olarak gerekebilir. Hastalarda CMV aktivasyonu ve parvovirüs B19 enfeksiyonu dışlanmalıdır.

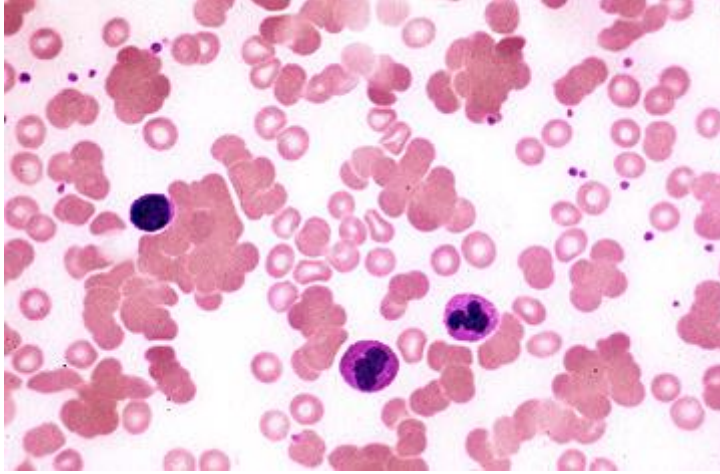
2.1.4.1.2.5 Viral Enfeksiyonlar

Otoimmün hemolitik anemi infantil dönemde çoğunlukla viral ve bakteriyel enfeksiyonlardan kaynaklanır (61). Epstein Barr virüs, Sitomegalovirus, İnsan immün yetmezlik virüsü, Hepatit virüsleri nadir olarak da varisella, rubella ve parvovirus B19 otoimmün hemolitik anemi bildirilmiş ajanlardır (27).

Otoimmün hemolitik anemi; enfeksiyöz mononükleozisli (EM) hastalarda hastalık başlangıcından 1-2 hafta sonra % 3 oranında görülmektedir. Enfeksiyöz mononükleozis yüksek termal genliğe sahip anti-i soğuk aglütinin ile ilişkilidir (62). Vakaların çoğu 4-8 hafta içinde kendini sınırlamaktadır (63).

2.1.4.2. Soğuk-Tip Otoimmün Hemolitik Anemi

Soğuk tip otoimmün hemolitik anemi, kompleman aktivasyonunu tetikleyen IgM pentamerler aracılı intravasküler hemolizin görüldüğü çocuklarda nadir görülen bir hastalıktır. Sıcak tip otoimmün hemolitik aneminin aksine, hastalarda C3d pozitif, Ig G – negatif DAT görülmektedir. Pediatrik vakaların çoğunda (% 50-% 75) 1-2 hafta içinde geçirilmiş bir enfeksiyon, en yaygın olarak mikoplazma pnömonisi mevcuttur (14). Klinik genellikle hafiftir. Hastalar tipik sıcaklıklarda etkilenir. Periferik yaymada sferositler ağırlıklı olarak intravasküler hemoliz nedeniyle görülmemektedir. Eritrositlerde kümeleşme rulo formasyonu görülmektedir. Eritrosit kümeleşmesi tam kan sayımını etkileyerek aneminin daha derin ve MCV'nin yanlış yüksek ölçülmesine neden olabilir (Resim 2).



Resim 2. Soğuk aglütinin hastalığı periferik kan yayması: Periferik yaymada yaygın hemaglütinasyon görülmektedir. Resim 2 <https://www.uptodate.com> adresindeki görseller kullanılarak oluşturuldu.

Tedavi altta yatan hastalığın tedavisi ve soğuk maruziyetinden kaçınmayı içerir. Hastalara tedavide verilen sıvı ve kan ürünleri ısıtılmalıdır (5).

2.1.4.3. Paroksizmal Soğuk Hemoglobinüri

Çocuklar nadiren, eritrosit yüzeyindeki P antijenine karşı Ig G yapısında (Donath-Landsteiner antikoru) antikorumun neden olduğu paroksizmal soğuk hemoglobinüri geliştirebilirler (64). Paroksizmal soğuk hemoglobinüri vakaları, edinilmiş OİHA'ların % 1- % 3'ünü oluşturmaktadır (27). Donath-Landsteiner antikoru bifaziktir.

Başlangıçta komplemanı sabitler, soğutma ve yeniden ısıtma ile kompleman güçlendirilir ve hemoliz meydana gelir. Çocuklarda, paroksizmal soğuk hemoglobinüri viral enfeksiyonlarla ilişkilidir. Antikorlar, 12 hafta boyunca hemolizi devam ettirebilir. Hastalar destekleyici bakım ve soğuk maruziyetinden kaçınarak tedavi edilmelidir. Hastalara tedavide verilen sıvı ve kan ürünleri ısıtılmalıdır (5, 14).

Tablo 5. Otoimmün hemolitik aneminin laboratuvar bulguları ve patofizyolojisi

	Sıcak tip	Paroksizmal soğuk hemoglobinüri	Soğuk aglütinin hastalığı
Antikor tipi	Ig G	Ig G	Ig M
Termal aktivite	37 C°	4 C°	4 C°
Kompleman fiksasyonu	+/-	Evet	Evet
DAT			
4 C°	Reaksiyon	IgG, C3	C3
37 C°	yok	C3	C3
	Ig G +/- C3		
Spesifik antijen	Rh ve diğer	P	I/i
Hemoliz yeri	Dalak	İntravasküler	Karaciğer ve intravasküler

-DAT: Direkt antiglobulin testi Ig: İmmunglobulin C3: Kompleman 3

- “Chou ST, Schreiber AD. Autoimmune hemolytic anemia. In: Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood, 8th ed, Orkin SH, Fisher DE, Look T, et al. (Eds), WB Saunders, Philadelphia 2015. p. 411 ” dan uyarlanmıştır (37).

2.2. Tedavi

Otoimmün hemolitik anemi kliniği ile başvuran hastalarda tedavi öncesi serolojik tanısı doğrulanmalıdır. Sıcak tip hemolitik anemide tedavi yaklaşımı soğuk tip hemolitik anemiden oldukça farklıdır. Sekonder sebeplere bağlı OİHA gelişen hastalarda altta yatan hastalığın tedavisi planlanmalıdır. Otoimmün hemolitik anemi nedeni ile tedavi planlanan hastaların eşlik eden diyabet, aterosklerotik ve koroner vasküler hastalık, venöz tromboz, renal yetmezlik ve diğer sitopeniler gibi komorbiditeleri ilaç seçiminde modifikasyon gerektirebilir (27).

2.2.1. Sıcak Tip Otoimmün Hemolitik Anemi Tedavisi

Primer (idiyopatik) sıcak tip OİHA tedavisinde immün supresyon ve modülasyon amacıyla yaygın olarak kortikosteroidler, IVIG veya rituksimab kullanılmaktadır (42). Kortikosteroidler sıcak tip OİHA tedavisinin temelini oluşturur. Hastaların yaklaşık % 70 - % 85'i günler veya haftalar içerisinde steroid tedavisine yanıt verir. Steroid tedavisi için çeşitli intravenöz ve oral doz rejimleri kullanılmaktadır. Doz azaltma sırasında nüks yaygındır, bu nedenle steroid doz azaltma planı klinik yanıt ve laboratuvar tetkikleri göz önünde bulundurularak 4 -6 ay içerisinde yapılmalıdır (8). Sekonder OİHA li hastalarda standart dozlarda steroid ile tedavi yanıtları primer OİHA li hastalara göre daha düşüktür (65). Çalışmalar düşük doz ve 6 aydan uzun sürede steroid tedavisi uygulanan hastalarda nüks ihtimalinin daha düşük, remisyon süresinin daha uzun olduğunu göstermektedir (8).

Steroide yanıt vermeyen veya nüks gözlenen hastalar için tedavide ikinci basamak ilaçlar önerilmektedir. İmmüsupresif ajanlara bağlı hayatı tehdit eden enfeksiyon riski nedeniyle ikinci basamak tedaviye başlamadan önce, altta yatan immün yetmezlik ve immün disregülasyon açısından hastalar değerlendirilmelidir.

Ritüksimab, steroid refrakter veya nüks hastalarında tercih edilen antikor üreten B hücrelerini dolaşımdan ortalama 6 ile 9 ay boyunca elimine eden ikinci basamak ilaçtır. Ritüksimab tedavisine primer ve sekonder OİHA için yanıt oranı % 83 ile % 87 arasındadır (66). Standart ritüksimab doz planı haftalık 375 mg / m² doz ile toplam 4 haftadır. Rituximab ilişkili yan etki, infüzyon reaksiyonları dışında nadir görülmektedir(67, 68). İntravenöz immünglobulin replasmanı gerektiren hipogamaglobulinemi gelişebilmektedir. Ritüksimab tedavisi öncesi altta yatan yaygın

değişken immun yetmezlik (CVID) veya diğer immun yetmezlik sendromlarını dışlamak için tedaviden önce immünoglobulin düzeyleri ve lenfosit paneli görülmelidir(8).

Sıcak tip OİHA tedavisinde kullanılmakta olan diğer ajanlar arasında antimetabolitler (merkaptopurin, azatiyopürin, mikofenolat mofetil, metotreksat), kalsinörin inhibitörleri (siklosporin), alkilleyici ajanlar (siklofosfamid), mTOR inhibitörleri (sirolimus), mitotik inhibitörler (vinkristin veya vinblastin) ve biyolojik ajanlar (alemtuzumab) bulunmaktadır(15). Bu ajanlar için yayınlanmış tekli veya kombinasyon tedavilerinden oluşan vaka serileri olmakla birlikte henüz yapılmış randomize kontrollü çalışmalar bulunmamaktadır. Yetişkinlerde yaygın olarak kullanılan bir ajan olan Danazol, maskülenizan etkileri nedeniyle OİHA'lı çocuklarda ilk sıralarda tercih edilmemektedir (69) .

Danzol, hücreye bağlı Ig G ve hücreye bağlı komplemanı azaltan ve yeni Ig G üretimini azaltan hafif androjenik özelliklere sahip etinil testosteron türevi sentetik bir androjendir (70). Danazol sıcak tip OİHA li hastalarda birinci basamak tedavi olarak steroid tedavisi süresini kısaltma amacıyla steroid ile birlikte kullanılabilir. Danazol ve steroid tedavisinin sinerjistik etkileri 2 çalışmada gösterilmiştir (69, 71).

Steroid tedavisine refrakter sıcak tip OİHA'lı hastalarda siklofosfamid (100 mg / gün) veya azatiyoprin (100-150 mg / gün) tedavi seçenekleri arasında yer almaktadır. Siklofosfamid tedavisinin etkinliği çalışmalarda % 25 ile % 40 arasında raporlanmaktadır. Tedavi 6 ay uygulamaya rağmen yanıt alınmaz ise başarısız olarak kaydedilmelidir. Saç dökülmesi, gonadal toksisite, kemik iliği baskılanması, hematüri ve lösemi gelişme riski gibi ağır yan etkilerinin olduğu akılda tutulmalıdır (72). Siklosporin A, steroide refrakter sıcak tip OİHA li hastalarda tedavi amacı ile kullanılan ilaçlardandır. Sıcak tip OİHA li hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada tedavide siklosporin A, steroid ve danazol kombinasyonu uygulanan 18 hastada yanıt oranı iken (%89) buna karşılık, sadece steroid ve danazol kullanılan 26 hastada yanıt oranı % 57.7 olarak saptanmıştır (73). Siklosporin A 5-10 mg/kg/gün dozunda ikiye bölünerek oral yoldan başlanıp, siklosporin kan düzeyine göre doz ayarlanmaktadır (37).

Mikofenolat mofetil, özellikle T ve B lenfosit hücrelerinde guanosin nükleotidlerin de novo sentezine etki eden inosin monofosfat dehidrojenaz enzimini inhibe eden mikofenolik asidin ön ilacıdır. Mikofenolat mofetil lenfosit proliferasyonu

güçlü bir şekilde önlemesi nedeni ile greft reddini önlemek için organ transplantasyonu yapılan hastalarda sıkça kullanılmaktadır(74). Çocuklarda 30-40 mg/kg/gün dozunda ikiye bölünerek ağızdan, yetişkinde 500-1000 mg/gün dozunda ikiye bölünerek başlanır ve yetişkinlerde 1000-2000 mg/gün dozuna kadar çıkılabilir (37).

Sirolimus, antijenik ve sitokin stimülasyonuna yanıt olarak oluşan T lenfosit aktivasyonunu ve proliferasyonunu ve antikor üretimini inhibe eder. Sirolimus hücre içi bir protein olan FKBP-12'ye bağlanarak mTOR'u (mechanistic target of rapamycin) inhibe eden bir immunsupresif kompleks oluşturur. Hücre döngüsünün G1'den S fazına ilerlemesini durdurarak, sitokin aracılı T hücre proliferasyonunu inhibe eder (75).

Intravenöz immünoglobulin, sıcak tip OİHA tedavisinde steroidlere ek olarak kullanılmaktadır. Flores ve ark. sıcak tip OİHA'lı 73 hastada yaptıkları bir çalışmada , intravenöz immünoglobulin (0.4-0.5 g / kg) 5 gün uygulanan hastalarda % 39.7 etkinlik, çocuklarda % 54.5 ile daha yüksek etkinlik saptanmıştır. Şiddetli hemolizi olan vakalarda intravenöz immunglobulin steroid tedavisine yardımcı tedavi olarak uygulanabilir (76).

Splenektomi primer OİHA'da genellikle etkilidir, ancak çocuklarda hümmoral immunitenin gelişimi 5 yaşına kadar devam ettiği için ertelenmelidir. Splenektomi planlanan hastalar ameliyat öncesinde kapsüllü bakterilere karşı aşılmalıdır. Sepsis riskini önlemek için splenektomi uygulanan çocuklarda antibiyotik profilaksisi başlanmalıdır. Splenektomi sonrası hasta tromboz riski açısından takip edilmelidir(8). Laparoskopik splenektomi ve post operatif antibiyotik ve trombotik profilaksi ile cerrahi ilişkili morbidite ve mortalite önemli ölçüde azalmıştır (77). Splenektomi yanıtı ile ilgili en güncel sonuçlar % 40 ile % 80 hastada ilk yanıt ve % 20 hastada uzun süreli remisyon olarak raporlanmıştır (78).

2.2.2. Soğuk-tip Otoimmün Hemolitik Anemi Tedavisi

Soğuk tip OİHA tedavisi, kortikosteroidlere yanıtsız olması nedeniyle sıcak tip OİHA'dan farklıdır (38). Soğuk tip OİHA tedavisinde hastayı ısıtmak ilk ve bazen tek gerekli olan tek önlemdir (79). Birincil hedef mümkünse altta yatan enfeksiyonun tedavisidir (38) . Transfüzyon gerekli ise, kan ürünü ısıtılarak transfüze edilmelidir. Hemoglobininin böbrek tübülleri üzerindeki toksik etkilerinden kaçınmak amacıyla hasta iyi hidrate edilmeli ve diürez takip edilmelidir (79). Bazı soğuk tip otoimmün

hemolitik anemi hastalarında rituksimab tedavide etkilidir, ancak çocuklarda nadiren gereklidir. Ağır hastalarda plazmaferez uygulanabilir. Kortikosteroidler ve splenektomi genellikle soğuk tip otoimmün hemolitik anemi için etkisizdir (5).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Özellikleri ve Çalışma Protokolü

Bu çalışma SBÜ İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi Çocuk Hematoloji Kliniğinde 1997 -2019 yılları arasında otoimmün hemolitik anemi tanısı ile takipli 1 ay ve 18 yaş aralığındaki hastalarda gerçekleştirildi. Veriler retrospektif olarak 1 Aralık 2019 – 1 Mart 2020 tarihleri arasında kaydedildi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri :

- ✓ Merkezimizde otoimmün hemolitik anemi tanısı almış olması
- ✓ Tüm tedavi seçimlerinin merkezimizdeki izleminde yapılmış olması ve yanıtlarının en az altı ay süreyle merkezimizde takip edilmiş olması
- ✓ Bilgilendirilmiş gönüllü onam formunun hasta çocuk ve ebeveynleri tarafından onaylanmış olması.

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri :

- ✓ Soğuk aglütinin veya Donath Landstainer antikor pozitifliği saptanması
- ✓ Tedavi yanıtının değerlendirilemediği hastalar (tedavi değişikliği sonrası en az 6 ay izlenememiş olması)

Tanı:

Periferik kan yaymasında polikromazi, normoblastlar, fragmente eritrositler, mikrosferositler ve makrositlerin bulunması, Hb düşüklüğü, retikülositoz, LDH yüksekliği, total bilirubin yüksekliği eşlik etmesi ve DAT pozitifliğinin olması sıcak tip immün hemolitik anemi olarak kaydedildi. Bunun yanısıra DAT negatif olup diğer parametreleri destekleyen hastaların steroid yanıtı olması tanısız kabul edildi.

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların bilgileri hastanemiz elektronik veri tabanında kayıtlı epikriz ve laboratuvar sonuçları, hemşire ve hekim dosya notları kullanılarak tarandı. Hastaların aşağıda belirtilen verileri kaydedildi.

Demografik özellikler:

Hastaların doğum tarihi, yaşı, cinsiyeti, otoimmün hemolitik anemi tanısı aldığı yaş, varsa tanı anında eşlik eden diğer hastalıkları, aile ve kardeş öyküsü kaydedildi. Eşlik eden immün yetmezlik veya ek hastalık bulunan hastalar sekonder OİHA, diğer hastalar ise idiyopatik OİHA olarak değerlendirildi (80).

Laboratuvar Parametreleri:

Tanı sırasındaki tam kan sayımı, total ve indirek bilirubin düzeyi, LDH, düzeltilmiş retikülosit yüzdesi, varsa viral serolojileri, serum Ig düzeyleri, lenfosit paneli kaydedildi.

Tedavi:

Hastalara tanı anında eritrosit süspansiyonu verilmiş olması, uygulanan intravenöz immunglobulin, steroid, kombinasyon tedavileri ve uygulanan diğer immunsupresan tedaviler kaydedildi. Hastalara tanı sırasında, hastalık tekrarladığında ve refrakter olduğunda uygulanan tedaviler sınıflandırıldı. Çalışmaya alınan hastalarda izlemde splenektomi gereksinimi ve splenektomi zamanı kaydedildi.

Tedavi yanıtının değerlendirilmesi (CEREVANCE kriterleri) :

Hb değerinin 11 g/dl'nin üzerine çıkması tam yanıt, 7-11 g/dl ise parsiyel yanıt olarak değerlendirildi.

Nüks tanımı:

Tedavi kesildikten sonra ve steroid dozunun azaltılmasını takiben Hb düzeyini idame ettirememesi nüks olarak tanımlandı.

Tedavi yanıtlarının karşılaştırılması:

Hastalar tanı sırasında tercih edilen tedaviye ve etyolojiye göre idiyopatik ve sekonder olarak gruplandırıldı. Hastalığın tekrar etmesi açısından gruplar arasındaki farklılık değerlendirildi.

3.2. İstatiksel Analiz

İstatistiksel analizler Microsoft Excel programı ve SPSS (Statistical Package for Social Sciences-IBM Inc. Chicago, Illinois, USA) 24 programı kullanılarak yapıldı. Nümerik değişkenler Ortalama \pm standart sapma, ortanca (en düşük-en yüksek) ve frekans (yüzdeler) olarak verildi. Verilerin dağılımı değerlendirildi. Gruplar arasında oranların karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. Dağılımlar normal olmadığı için gruplar arasında farkların değerlendirilmesi için Mann-Whitney U testi ve Kruskal Wallis testi kullanıldı. $p < 0.05$ iki yönlü testlerde istatistiksel önemlilik için yeterli kabul edildi.

3.3. Etik Kurul

Bu çalışma Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak düzenlenmiştir. SBÜ İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 05/12/2019 tarihli toplantısında 2019/338 protokol numarası ile onaylanmıştır.

3.4 Çalışma tasarımı ve benzerlik oranı

Çalışmanın tasarımı; EK 1'de belirtildiği üzere STROBE (The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology) kılavuzuna uygun hazırlanmıştır (EK 1).

Üniversitemiz tez yazım kılavuzu 3.6'ncı madde "i" bendine uygun olarak Turnitin®, LLC (2020) programı kullanılarak filtreleme uygulanmadan oluşturulan orijinallik raporunda bu çalışmanın benzerlik oranı %6 ile kılavuz önerisi olan %25'in altında saptanmıştır.

3.5 Çıkar Çatışması

Çalışmanın tarafsızlığı ile ilgili bilinmesi gereken herhangi bir mali katkı veya diğer çıkar çatışma ihtimali (potansiyeli) ve ilişki alanı yoktur.

4. BULGULAR

Hastaların demografik özellikleri:

1997 -2019 yılları arasında merkezimizde otoimmün hemolitik anemi tanısı alan ve tedavileri yapılan toplam 39 hasta çalışmaya alındı. Değerlendirmeye alınan 39 hastanın %41'i (n=16) kız, %59'ü (n=23) erkekti. Hastaların ortalama (SS) tanı yaşı 61,0 (53,7) ay ve tanıdan itibaren ortalama (SS) izlem süresi 86,2 (70,9) ay idi. Bir yıldan daha kısa süredir izlenen 6 hasta vardı. Olguların demografik özellikleri Tablo 6'da izlenmektedir. Oniki hastada (%30,7) anne baba arasında akrabalık mevcuttu. Anne baba arasında akrabalık bulunan 3 hastanın, akrabalık bulunmayan 2 hastanın benzer klinikte kardeş öyküsü bulunmaktaydı (Tablo 6).

Tablo 6 . Çalışma grubunun demografik özellikleri

Erkek / kız (n)	23 /16
Tanı yaşı (ay) ortalama (SS)	61,0 (53,7)
İzlem süresi (ay) Ortalama (SS)	86,2 (70,9)
Anne-baba akrabalık öyküsü, n (%)	12 (%30,7)
Hasta kardeş öyküsü, n (%)	5 (%12,8)

SS: Standart sapma

Akraba evliliği olanlar ve olmayanlar arasında kardeş öyküsü açısından fark saptanmadı. (Tablo 7)

Tablo 7. Akraba evliliği ile kardeş öyküsünün karşılaştırılması

		Kardeş öyküsü		Toplam n (%)	p
		Yok n (%)	Var n (%)		
Akraba evliliği	Yok	25 (64)	2 (5)	27 (69)	0,149
	Var	9 (23)	3 (7)	12 (31)	
Toplam		34 (87)	5 (12)	39 (100)	

Sıcak tip otoimmün hemolitik anemilerin sınıflandırılmasına göre hastaların dağılımı Tablo 8’de görülmektedir. Anne baba arasında akrabalık görülen 12 hastanın 11’i sekonder immün hemolitik anemi grubundayken biri idiyopatik gruptaydı. Kardeş öyküsü olan 5 hasta da sekonder grupta yer almaktaydı.

Tablo 8. Sıcak tip otoimmün hemolitik anemi sınıflamasına göre hastaların dağılımı

Sınıflama	n (%)
İdiyopatik	18 (46)
Sekonder	21 (54)
1. Otoimmün hastalık	
✓ Evans sendromu	6 (15)
✓ Sistemik lupus eritematozis	2 (5)
2. İmmün yetmezlik	
✓ CTLA-4 haplo yetmezliği	1 (2)
✓ Süt çocuğunun geçici hipogamaglobulinemisi	1 (2)
✓ Digeorge sendromu	2 (5)
✓ DOCK-8 eksikliği	2 (5)
✓ PNP eksikliği	1 (2)
✓ Hipogamaglobulinemi	3 (8)
3. Otoimmün lenfoproliferatif hastalık	3 (8)
Toplam	39 (100)

-CTLA-4: T lymphocyte associated protein 4 - PNP: Pürin nükleosid fosforilaz
-DOCK-8: Dedicator of cytokines 8

Laboratuvar Bulguları:

Tanı anında ortalama Hb değeri 6,6 mg/dl, ortalama hematokrit %19,7 idi. Hastaların ortalama trombosit değeri $258 \times 10^3/\text{mm}^3$ idi. Tanı anında 9 hastanın trombositopenisi mevcut idi. Hastaların tanı anındaki hemogram ve biyokimya bulguları Tablo 9 ’da belirtilmiştir.

Tablo 9. Tanı anında hastaların laboratuvar bulguları

	Ortalama (SS)	Ortanca	En düşük- En yüksek
Hb (g/dl)	6,3 (2,1)	6,6	(3-11,5)
Htc (%)	18,9 (7,5)	19,7	(5,4-34,5)
MCV (fl)	90 (16,2)	86	(67,3-126)
Ret (%)	7,5 (8,9)	4,8	(1-42,8)
Trombosit (10³/mm³)	259 (157,0)	258	(4-506)
LDH (ünite/L)	780,4 (717,0)	494	(198-3309)
Ürik Asit (mg/dl)	4,1 (2,07)	3,9	(1-11,6)
Total bilirubin (mg/dl)	3 (3,5)	2,2	(0,3-17)
Direkt bilirubin (mg/dl)	0,7 (0,9)	0,5	(0-5,5)

Hb: Hemoglobin, Htc: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, Ret: Retikülosit,
LDH: Laktat dehidrogenaz, SS: Standart sapma

Hastaların 37'sinde DAT pozitif saptandı. Direkt antiglobulin testi negatif olan hastalardan biri CTLA-4 haplo yetmezliği tanılıydı. Diğer hasta ise hemoliz bulguları ve steroid tam yanıtı olması nedeni ile immün hemolitik anemi olarak değerlendirilmişti (Tablo10).

Tablo 10. Hastaların sıcak immün hemolitik anemi tipine göre DAT pozitifliklerinin değerlendirilmesi

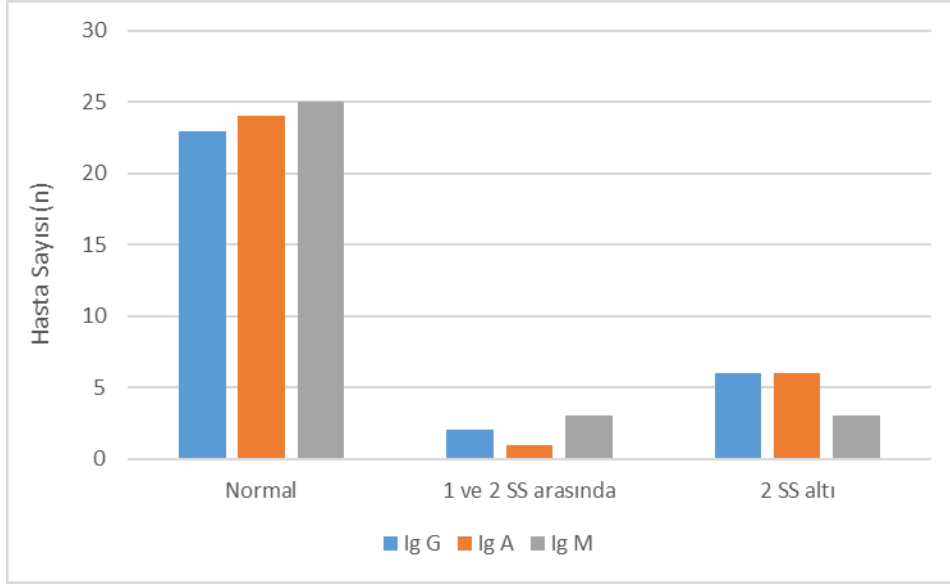
		Sıcak tip otoimmün hemolitik anemi tipi		Toplam n (%)
		İdiyopatik n (%)	Sekonder n (%)	
DAT	Negatif	1 (2)	1 (2)	2 (5)
	Ig G pozitif	1 (2)	3 (7)	4 (10)
	Ig G + Kompleman pozitif	4 (10)	1 (2)	5 (12)
	Poliklonal pozitiflik	12 (30)	16 (41)	28 (71)
Toplam		18 (46)	21 (54)	39 (100)

DAT: Direkt antiglobulin testi, Ig:İmmunglobulin

Çalışmaya alınan hastaların 37'sinde viral seroloji ve 4'ünde viral PCR sonuçları mevcuttu. Bunlardan ikisinde (%5) Anti CMV Ig M pozitifliği, birinde (%2) CMV PCR pozitifliği ve birinde (%1) hastada nazal aspiratta solunum multipleks PCR mikoplazma pnömonia pozitifliği saptandı.

Başvuru sırasında ilaç öyküsü olan 16 (%41) hasta mevcuttu. Bu hastaların sekizinde (%50) amoksisilin klavulonat, sekizinde (%50) sefalosporin grubu antibiyotik kullanmıştı. İlaç kullanım öyküsü bulunan hastaların 13 (%81)'ü birinci sıra tedavi yeterli olmuştu. Ancak ilaca bağlı immün hemolitik anemi olduğunu gösteren ileri test yapılmamıştı.

Tanı anında 31 hastanın immunglobulin düzeyleri çalışılmıştı. Bunlardan 23 (%74,2)' ünün Ig G düzeyleri normal saptanırken ikisinin (%6) Ig G düzeyleri 1 ve 2 SS altı arasında, altısının (%19) 2 SS altında saptandı. İmmunglobulin A düzeyi 24 (%77,4) hastada normal saptanırken bir hastada 1 ve 2 SS altı arasında, 6 hastada (%19) 2 SS altında saptandı. İmmunglobulin M düzeyi hastaların 25'inde (%80) normal sınırlarda, 3 (%9) hastada 1 ve 2 SS altı arasında, 3 (%9) hastada 2 SS altında saptandı (Şekil 2). Tanı anında IgE düzeyi çalışılan 19 (%48) hastadan birinin değeri 2 SS üzerindediydi.



Şekil 2. Hastaların tanı anındaki immünglobulin değerleri

Tanı anında 21 hastanın lenfosit alt grupları çalışılmıştı. Lenfosit alt grup değerlendirilmesinde hastaların altısında (%28) B lenfosit sayısı, dokuzunda (%42) T lenfosit sayısı ve üçünde (%14) NK hücre sayısı yaşa göre 5 percentilin altında izlendi. Tanı anında 2 hastanın hem T hücre hem de B hücre değeri yaşa göre 5 percentil altında saptandı (Tablo 11).

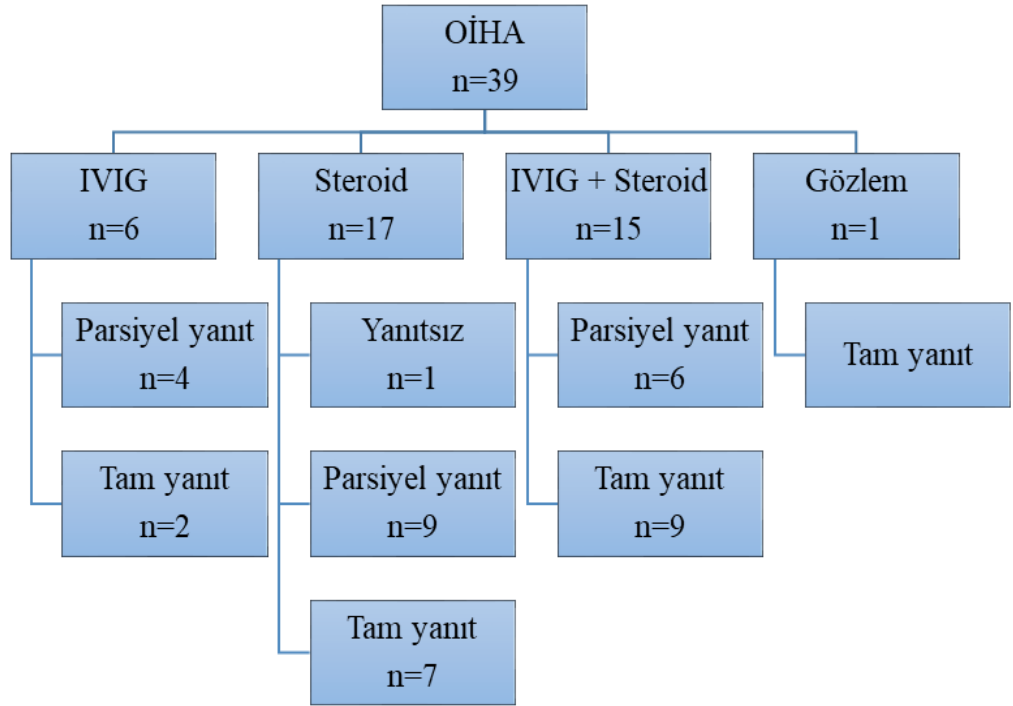
Tablo 11. Lenfosit alt gruplarının değerlendirilmesi

		Hasta Sayısı, n (%)
B hücre	<5 p	6 (%23)
	5-10 p	4 (%15)
T hücre	<5 p	9 (%34)
	5-10 p	2 (%7)
NK hücre	<5 p	3 (%11)
	5-10 p	1 (%3)

Tedavi seçimleri ve yanıtların karşılaştırılması:

Tanı sırasında tedavi seçiminde 6 hastaya IVIG, 17 hastaya steroid, 15 hastaya IVIG + steroid kombine tedavisi uygulanmıştı. Hastalardan biri tedavisiz izlem ile takip edildi (Şekil 3). Bir ay içinde hastaların 19 (%48,7)'u tam yanıt, 19 (%48,7)'u parsiyel yanıt, bir hasta (%2,6) ise yanıtızsıdı. (Şekil 3)

Steroid alan hasta sayısı toplam 32 olup bunların 20 (%62)'sinde prednizolon, beşinde (%15) metilprednizolon ve yedisinde (%21) pulse metilprednizolonu takiben prednizolon ile uygulandı. Prednizolon uygulanan 27 hastanın 24 (%88)'ünde tedavi dozu 2 mg/kg, üçünde (%12) 1 mg/kg idi. Metilprednizolon dozları 3/5 hastada 2 mg/kg, 1 hasta 1 mg/kg ve 1 hasta da pulse metilprednizolon olarak uygulanmıştı.



Şekil 3. Tanı sırasında hastaların birinci sıra tedavi seçimleri ve tedaviye yanıt durumları

-IVIG: İntravenöz İmmünglobulin

Yirmi-üç hastaya (%58,9) tanı anında eritrosit süspansiyonu verildi. Tanı anında eritrosit süspansiyonu alan hastaların ortalama Hb değerleri daha düşük saptandı (Tablo 12).

Tablo 12. Tanı anında eritrosit süspansiyonu verilen ve verilmeyen hastaların tanı anındaki Hb değerleri

Transfüzyon	Hasta sayısı n (%)	Ortalama Hb (g/dl) (SS)	Ortalama Hb (g/dl)	Hb (g/dl) (En düşük-En yüksek)	p
Yok	16 (%41)	7,67 (1,92)	7,20	5,00-11,50	0,002
Var	23 (%59)	5,40 (1,83)	4,70	3,00-8,00	

(Hb: Hemoglobin, SS: Standart Sapma)

Tanı sırasında tedavi alt grupları incelendiğinde tanı anındaki Hb, LDH, total bilirubin, retikülosit değerleri ve tedaviye yanıt Hb açısından anlamlı fark saptanmadı (Tablo 13).

Tablo 13. Tanı sırasında tedavi seçimine göre grupların laboratuvar parametreleri açısından karşılaştırılması

Laboratuvar parametreleri / Ortanca (en yüksek - en düşük)	Tanı sırasında tedavi			Toplam	p
	IVIG n =7 (%18)	Steroid n=16 (%42)	IVIG+Steroid n=15 (%39)		
Hb (g/dl)	10,7 (8,5-11,9)	9,7 (7,6-13,3)	11,1 (6,6-13,9)	10,3 (6,6-13,9)	0,89
Ret (%)	4,38 (1-11,2)	5 (1-34)	4 (1-42,8)	4,9 (1-42,8)	0,44
LDH (ünite/L)	1091 (275-2165)	465 (198-2303)	378 (232-1172)	475 (198-2303)	0,16
Ürik asit (mg/dl)	3,65 (1,6-4,5)	4,7 (2,3-9,3)	3,6 (1-11,6)	3,85 (1-11,6)	0,10
T.Bil (mg/dl)	2,6 (0,3-15,5)	1,85 (0,3-17)	2,3 (0,3-8,2)	2,2 (0,3-17)	0,43

- Hb: Hemoglobin, Ret: Retikülosit, LDH: Laktat dehidrogenaz, T.Bil: Total Bilirubin

Hastalık nüksü ve tedavi ilişkisinin değerlendirilmesi:

İlk tanıdan sonra nüks eden 20 (%51,2) hasta oldu. İlk kez nükseden 20 hastanın 15'i erkek, beşi kız idi (p=0.05). Nüks eden hastalar ile tanı sırasında tedavi ile remisyonda kalan hastalar arasında tanı anındaki ortanca (en düşük – en yüksek) Hb değerleri sırasıyla 6,34 (3,1-11,5) g/dl ve 6,8 (3-9,8) g/dl idi (p=0,813). Nüks edenlerin tanı anında ortanca (en düşük – en yüksek) düzeltilmiş retikülosit yüzdesi 7,5 (1,07-42,8) ve MCV değeri 102,1 (67,3-126) fl olup nüks etmeyenlere göre daha yüksek saptandı (sırasıyla p=0,02 ve p=0,006). Nüks eden hastalarda tanı anındaki LDH 400,5 (226-2019) U/L daha düşük saptandı (p=0,028). Tanı yaşı ve diğer parametreler açısından fark saptanmadı (Tablo 14).

Tablo 14. Birinci sıra tedavi ile remisyonda olan hastalar ile nüks eden hastaların tanı anındaki laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması

Tanı anında Ortanca (en düşük –en yüksek)		Remisyonda olan hastalar	Nüks eden hastalar	p
	Yaş	44,7 (2-202)	38,5 (5-192)	0,770
	Hb (g/dl)	6,8 (3-9,8)	6,3 (3,1-11,5)	0,890
	Htc (%)	19,5 (5,4-31,5)	19,7 (6,4-34,5)	0,320
	Rtc (%)	2,35 (1-19,9)	7,5 (1-42,8)	0,002
	MCV (fl)	80 (68,7-103)	102,1 (67,3-126)	0,009
	LDH (U/L)	767 (198-3309)	400 (226-2019)	0,028
	Ürik asit (mg/dl)	3,6 (1,5-11,6)	4,2 (1-6,9)	0,425
	T. Bil (mg/ dl)	2,4 (0,3-17)	2,1 (0,3-17)	0,687

Hb: Hemoglobin, Htc: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, Ret: Retikülosit,
LDH: Laktat dehidrogenaz T.Bil: Total Bilirubin

Tanı sırasında tedavi seçiminde IVIG, steroid veya hem IVIG hem steroid tercih edilen 3 grup hasta arasında hastalığın nüks etmesi açısından anlamlı fark saptanmadı (p=0,128) (Tablo 15).

Tablo 15. Birinci sıra tedavi seçimine göre grupların hastalık nüksü açısından karşılaştırılması

		Birinci sıra tedavi			Toplam	p
		IVIG n (%15)	Steroid n (%43)	IVIG + Steroid n (%38)		
Nüks	Yok	5 (%13)	6 (%15)	7 (%18)	18 (%47)	p= 0,128
	Var	1 (%2)	11 (%29)	8 (%21)	20 (%52)	
Toplam		6 (%15)	17 (%44)	15 (%39)	38 (%100)	

IVIG: intravenöz immunglobulin

Steroid alan hastalar tekli ve IVIG ile birlikte kullanımları karşılaştırıldığında doz azaltmaya başlama süresi açısından fark saptanmadı (p=0,052) (Tablo 16).

Tablo 16. Birinci sıra tedavi seçiminde steroid* kullanılan grupların steroid doz azaltmaya başlama süresi açısından karşılaştırılması

	Doz azaltmaya başlama süresi (gün)				p
	Hasta sayısı n	Ortalama (SS)	Ortanca	En düşük- en yüksek	
Steroid	15	17,4 (8,4)	20	7-35	0,052
Steroid+IVIG	12	18,6 (6,7)	21	7-30	
Toplam	27 (100)	17,9 (7,5)	21	7-35	
*Sadece prednizolon hastalar					

IVIG: intravenöz immunglobulin, SS: Standart Sapma

Tanı sırasında steroid uygulanan hastalarda doz azaltılmaya başlama süresi ortalama (SS) 17,9 (7,5) gün idi. Tanı sırasında tedavi seçiminde steroid kullanılan 27 hasta

değerlendirildiğinde, nüks eden hastaların steroid dozunu azaltmaya başlama süresi daha uzun saptandı (Tablo 17).

Tablo 17. Tanı sırasında steroid* kullanılan hastalarda nüks eden ve nüks etmeyenlerin steroid doz azaltmaya başlama sürelerinin karşılaştırılması

Nüks	Doz azaltmaya başlama süresi (gün)					p
	Hasta sayısı n(%)	Ortalama (SS)	Ortanca	En yüksek-En düşük		
Yok	11 (45)	14,7 (5,6)	14	7-21	0,04	
Var	16 (55)	20,6 (8,0)	21	7-35		
Toplam	27 (100)	17,9 (7,5)	21	7-35		

*Sadece prednizolon hastalar

Tanı yaşları ortalaması (SS) idiyopatik ve sekonder grupta sırasıyla 45,5 (36,1) ay ve 61,0 (53,7) ay saptandı (p=0,165).

Sekonder otoimmün hemolitik anemili hastalarda nüks oranı daha yüksek saptandı (p<0,001) (Tablo 18).

Tablo 18. İdiyopatik ve sekonder sıcak tip otoimmün hemolitik anemilerin nüks açısından karşılaştırılması

		Sıcak otoimmün hemolitik anemi tipi		Toplam n(%)	p
		İdiyopatik n(%)	Sekonder n(%)		
Nüks	Yok	16 (41,3)	3 (7,7)	19 (48)	<0,001
	Var	2 (5,1)	18 (46,2)	20 (51)	
Toplam		18 (46,2)	21 (53,8)	39(100)	

İki ve daha fazla nüks görülen 13 hastanın tanıları Evans sendromu (n=4) Digeorge sendromu (n=2), hipogamaglobulinemi (n=2), ALPS (n=1), CTLA -4 haplo yetmezliği (n=1), DOCK-8 (Dedicator of cytokines 8) eksikliği (n=1) ve SLE (n=1) idi. Bunlardan sadece biri idiopatik gruptaydı.

Bu aşamada tedavi seçimleri; 6 (% 46)'sına 375 mg/m²/hafta dozunda 4 hafta olacak şekilde ritüksimab uygulandı. Ritüksimab tedavisi alan 6 hastadan üçünde tedavi yanıtı gözlemlendi (Tablo 19 ve Şekil 4). İlk doz ritüksimab tedavisinden sonra tedaviye yanıt süresi süresinin ortanca değeri 14 (12-21) gün idi. Ritüksimab tedavi yanıtı gözlenen 2 hastanın Digeorge sendromu tanısı mevcuttu. Diğer hastanın eşlik eden bir ek hastalığı bulunmamaktaydı. Ritüksimab tedavisine yanıt alınamayan hastaların eşlik eden hastalıkları Evans sendromu, ALPS ve hipogamaglobulinemi idi.

Siklosporin tedavisi uygulanan hasta sayısı 7 (%17.5) idi (Tablo 19 ve Şekil 4). Bu hastaların 6 (%85) 'sı erkek idi. Siklosporin tedavisi 3 - 6 mg / kg dozunda uygulandı. İki hastada siklosporin tedavisinin 14 ve 45. günlerinde yanıt alındı. Yanıt alınan dozlar sırasıyla 3 ve 6 mg/ kg idi.

Siklosporin ile tedavi edilen 7 hastanın dördü mikofenolat mofetil, bunların da üçü ritüksimab tedavisi almıştı. RTX tedavisine yanıtı olmayan olgu danazol ve sonrasında ise rapamisin almıştı.

Yedi (7/13) hastaya mikofenolat mofetil tedavisi uygulandı. Bunların 4 'ü erkek 3'ü kız idi. Mikofenolat mofetil tedavisine 4 hasta yanıt verdi. Yanıt verme süresi ortanca 14-180 gün (en düşük ve en yüksek) gün idi.

İki hastada rapamisin tedavisi uygulandı. Hastaların tedavi dozu 2 ve 2.5 mg/m² idi. Rapamisin tedavisini 2 mg/m² dozunda alan hastanın 14. günde tedavi yanıtı görüldü.

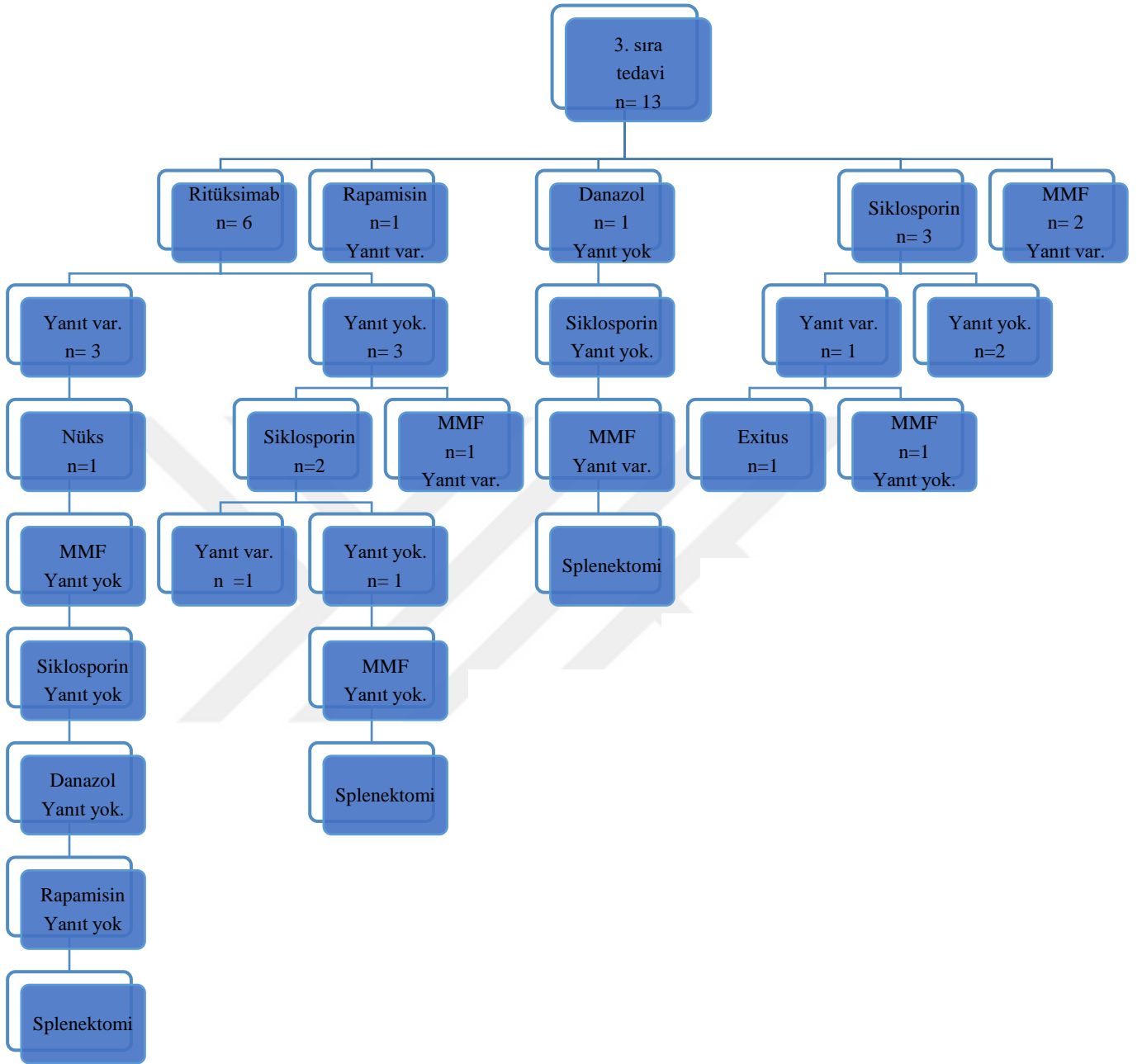
Tanı yaşı 55 ay olan bir kız hastaya danazol tedavisi uygulandı. Hastaya 2,5 ay süreyle 10 mg /kg dozunda uygulandı ve yanıt alınamadı.

Hastalara steroid yanıtı, ikinci ve sonrasındaki nükslerinde verilen tedavilerde seçilen ajanların dağılımı, tedavi dozları, tedavi yanıtları ve tedavi yanıt süreleri Tablo 19 ve Şekil 4 görülmektedir.

İzlemde 4 (%10) hastaya splenektomi uygulandı. Splenektomi uygulanan 2 hasta Evans sendromu, 1 hasta ALPS tanısı ile takip edilmekte idi. Bir hasta idiyopatik OİHA olarak tanımlanan grupta idi. Evans sendromu olan 2 hasta splenektomiye yanıtı idi. Çalışmaya alınan DOCK-8 eksikliği ve Digeorge sendromu tanısı ile izlenen 2 hasta (%5,1) izlemde kaybedildi.

Tablo 19. Steroid yanıtı, ikinci ve sonraki nükslerde verilen tedavi ajanlarının dozu ve yanıt süreleri

	RTX n=6	Siklosporin n=7	MMF n=7	Rapamisin n=2	Danazol n=2
Ortalama doz	375 mg/m ²	3 - 6 mg/ kg	600 mg/ m ²	2-2,5 mg/m ²	10 mg /kg
Tedaviye yanıtı hasta sayısı, n	3	2	3	1	Yanıtı
Tedaviye ortalama Yanıt süresi, gün(SS)	16,3 (4)	29,5 (21,9)	69,6 (76,4)	14	Yanıtı
Ortanca (endüyük-enyüksek)	14-21 gün	14-45 gün	14-180 gün		



Şekil 4. Steroid tedavisine yanıt alınamayan hastalarda verilen tedavi ajanları ve splenektomi durumları

5. TARTIŞMA

Çocukluk çağında görülen immun hemolitik anemilerin en önemli kısmını sıcak otoimmun hemolitik anemiler oluşturmaktadır. En iyi bilinen birinci basamak tedavi ajanı steroid olmaktadır. Bunun yanısıra IVIG tedavisi de birinci basamakta verilmektedir (8, 13, 81). Hastalar tedaviye yanıt verseler de 6 ay – 1 yıllık süre içinde % 15-40 oranında nüks edebilmektedir. İlk nükslerde birinci basamak tedavi ajanları tekrar verildiğinde yanıt alınmaktadır (1, 82-84). Bu çalışmada ilk kez nüks eden hastaların tanı sırasında başlanan tedavide kullanılan ajanlar ve steroid azaltma süresinin ilk nüks açısından farklı olup olmadığını değerlendirdik. Ayrıca ilk kez nüks eden hastaların demografik ve klinik özellikleri değerlendirildi.

Hastalarımızın %46'sı idiopatik grupta yer alırken %54'ü sekonder gruptaydı. Aladjidi ve ark yaptığı 265 hastayı kapsayan en geniş seride ise hastaların %37'si idiopatik (primer) ve %53'ü sekonder gruptaydı. Bu çalışmalarda olduğu gibi çocukluk çağında görülen otoimmun hemolitik anemilerin yarısından fazlası sekonder olması nedeniyle altta yatan neden açısından mutlaka araştırılması önerilmektedir (21). Bizim hastalarımızın %15'ini Evans sendromu oluştururken en geniş serilerde bu oran %20-37 arasında rapor edilmişti(1, 82, 85, 86). Demografik özellikleri erkeklerin daha fazla olduğu (E/K=23/16) ve ortalama tanı yaşı 5 yıl (idiopatik grup için 3,7 ve sekonder grup için 6,1) oldukları saptandı. Cinsiyet eğilimi açık olmasa da küçük yaş gruplarında erkeklerde daha fazla görülebilmektedir (1). Aladjidi ve ark. çalışmasında ise idiopatik grupta yaş ortalaması bizim çalışmamızla benzer şekilde 3,8 yıl olarak bildirilmişti (1). Çocukluk çağında immun hemolitik anemiler bebeklik döneminden adölesan döneme kadar her yaşta görülebilmektedir (7, 16, 87). Bizim çalışmamızda da en küçük ve en büyük hastamızın tanı yaşı sırasıyla 2 ay ve 16,8 yıl idi. İki yaşın altında ve adölesan çağıdakilerin sekonder grupta olma olasılığı daha yüksektir (88, 89). Bizim çalışmamızda da 2 yaşın altındaki 11 hastanın altısı sekonder gruptayken 12 yaşın üstündeki 5 hastanın hepsi benzer şekilde sekonder gruptaydı.

Anne baba arasında akrabalık olan hasta sayısı 12 (%30) hastanın 11'i ve kardeş öyküsü (primer immun yetmezlik veya otoimmünite) olan 5 (%12) hastanın tamamı sekonder gruptaydı. Bu durum kalıtsal geçişli olan immun yetmezliklerin ve otoimmun hastalıkların sekonder immun hemolitik anemi grubunda olması ile açıklanabilir.

Çocuk yaş grubunda 265 hastayı kapsayan bir çalışmada anne baba akrabalık oranı %8 ve birinci derece akrabalarda %12 oranında primer immün yetmezlik ve otoimmün hastalık bulunmaktaydı (1). Ancak bizim çalışmamızda birinci derece akraba olarak sadece kardeş öyküsü değerlendirilmiştir.

Sıcak tip otoimmün hemolitik anemilerde çapraz karşılaştırmanın uygun olduğu eritrosit süspansiyonu sağlamak mümkün olmadığı için transfüzyon hedefine ulaşmak güçtür. Bizim hasta grubumuzda ilk atak tedavisi sırasında hastaların %58,9'una eritrosit süspansiyonu verilmesi gerekmişti. Bu oran Aladjidi ve ark.'nın çalışmasında %65, Yaralı ve ark çalışmasında % 23,8 olarak rapor edilmişti (1, 90). Transfüzyon oranı Aladjidi ve ark.'nın çalışmasına yakın bulunmuştu. Sarper ve ark. yaptığı çalışmada hastaların Hb değerinin < 7 g/dl olması halinde transfüze edildiği belirtilmektedir. Bizim çalışmamızda transfüze edilen hastaların ortanca (en yüksek - en düşük) Hb değerleri 4,7 (3,0 - 8,0)g/dl idi.

Bu çalışmada tanı sırasında Hb düzeyi 6,6 (3,0-11,5) idi. İmmün hemolitik anemi tanısı aldığı sırada Hb düzeyi 11,5 g/dl olarak saptanan hasta Evans Sendromu olup başlangıçta trombositopeni saptanmıştı. Aladjidi ve ark çalışmasında başvuru sırasında Hb düzeyi 6,4 (2-10,9) saptanmıştı. Aynı çalışmada tanıda Hb düzeyi idiyopatik (izole) grupta sekonder gruba göre daha düşük, bilirubin ve LDH düzeyleri daha yüksek saptanmıştı. Bizim çalışmamızda ise sadece bilirubin açısından benzer şekilde idiyopatik grupta daha yüksek iken tanıda Hb düzeyi ve LDH açısından fark bulunmamıştı. Bu çalışmadan diğer farkı da bizim hastalarımızın retikülosit değerinin sekonder grupta daha yüksek saptanmasıydı.

Direk antiglobulin test negatif saptanan 2 hastamız bulunmaktaydı. Bu negatiflik antikorun Ig A tabiatına olmasına bağlı olabileceği gibi çok yoğun ya da zayıf afiniteli antikorlardan da kaynaklanabilmektedir. Aladjidi ve ark çalışmasında Ig A tabiatında DAT pozitifliği 265 hastadan ikisinde saptanmıştı (1). Onyediyi hastayı kapsayan bir çalışmada ise 4 hastada polispesifik Ig G'li DAT negatif saptanırken, ikisinde IgM ile DAT pozitif bulunmuştur (91). Merkezimizde o dönemde IgA ve IgM'li DAT değerlendirmesi yapılmadığı için bu açıdan veri mevcut değildi (1, 80). Direk antiglobulin test pozitifliğinin devam etmesi kötü prognostik olarak değerlendirilmektedir (1). Hastaların takibinde DAT seyirlerinin kaydedilmemiş olması çalışmamızın zayıflıklarından birini oluşturmaktadır.

Bizim çalışmamızda hastaların %19'unda IgG, %19'unda Ig A ve %9'unda IgM -2SS'nın altında saptanmıştı. Aladjidi ve ark. çalışmasında ise Ig G, A ve M düzeyleri -2SS'nın altında olan hasta oranları sırasıyla %16, %14 ve %12 olarak rapor edilmişti (1).

Lenfosit alt grupları çalışılan 21 hastadan altısında B hücreleri ve dokuzunda T yaşa göre < 5p saptanmıştı. Hücre sel immünitedeki değişikliklerin immun hemolitik anemilerdeki rolünü göstermek için daha farklı düzenlenmiş bir çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşündük.

Olgularımızın 37/39 (%95)'inin tanı anında etyolojik açıdan değerlendirilmek amacıyla viral belirteçler değerlendirildi. Hastaların 33/37 'sinde (%89) viral belirteçler negatif olarak sonuçlandı. Dört hastanın viral belirteçlerinde pozitiflik saptandı. Serum Anti CMV Ig M pozitifliği, 1 hastada CMV PCR pozitifliği ve 1 hastada nazal aspiratta solunum multipleks PCR mikoplazma pneumonia pozitifliği saptandı. Yaralı ve arkadaşlarının 21 otoimmün hemolitik anemili hastada yaptıkları çalışmada 4 hastada viral seropozitiflik saptanmış. Bir hastada HBV, 2 hastada CMV ve 1 hastada da toksoplazma seropozitifliği bildirmişlerdi (90). Hastaların belirteçleri ve enfeksiyon bulguları ile ilişkilendirilebilecek sorgulama yapılmadığı için bu hastalar enfeksiyona sekonder olarak değerlendirilmedi.

İlaç ilişkili OİHA'nın yıllık insidansı yaklaşık olarak milyonda 1-4 olarak bildirilmektedir. Günümüzde otoimmün hemolitik anemi ile ilişkili olduğu bildirilen 130'dan fazla ilaç bulunmaktadır (92) . Çalışmamızda başvuru sırasında ilaç öyküsü bulunan 16 hasta (%41) mevcuttu. Bu hastaların 8'i amoksisilin klavulonat, 8'i sefalosporin grubu antibiyotik kullanmıştı. Ancak kullanılan ilaçlarla ilgili immünohematolojik çalışma yapılmadığı için hastalar ilaca sekonder olarak değerlendirilmedi.

Bu çalışmada ilk atakta birinci basamak tedavi ile parsiyel ve tam yanıtlı hastalar birlikte değerlendirildiğinde bir ayın sonunda %97,4'ünde yanıt elde edilmişti. Ancak tam yanıt olarak değerlendirilen hasta oranı ise %48,7 olarak saptandı. Bir (%2,5) hastamızın tedavi ihtiyacı olmamıştı. Aladjidi ve ark.'nın çalışmasında da tam yanıt oranı %58 ve 7 (%2,6) hastanın tedavi ihtiyacı olmamıştı. Yirmi-bir hastayı kapsayan Yaralı ve ark. çalışmasında ise yanıt oranı %94 ve 2 hastanın tedavi ihtiyacı olmamıştı. Fan ve ark çalışmasında ise tanı sırasında hastaların tamamı steroid almış ve

%100'ünde yanıt sağlanmıştı. Bizim çalışmamızda ise tedaviye ihtiyacı olmayan 1 hasta olmuştu. Hastalarımızın 20 (%51,3) nüks gözlenmişti. Bu oran tanıdan sonraki 6 ay – 1 yıllık sürede %15-40 oranında belirtilmektedir (Sankaran 2016, Aladjidi 2011, Naithani 2007, Gupta 2008). Sarper ve ark. çalışmasında da 4 ay-10 yıllık izlem süresinde nüks ve refrakter hasta oranı %26,3 saptanmıştı (85). Bizim çalışmamızda da izlem süresi bir yılı geçmeyen 6 hasta bulunmaktaydı.

Bu çalışmada tanı sırasında tedavi seçimlerinde hastaların % 15,4 IVIG, % 43,6'sı steroid ve % 38,5'i IVIG ve steroid almıştı. İntravenöz immunglobulin ve steroid birlikte kullanımı Yaralı ve arkadaşlarının çalışmasında 21 hastanın 14 (%66)'ünde uygulanırken Sarper ve ark.'nın çalışmasında sadece 1 hastada ve Fan ve ark çalışmasında 22 (%48) uygulanmıştı (85, 86, 90) Aladjidi ve ark.'nın çalışmasında ise hastaların %48'inde tekli steroid uygulanırken IVIG kullanımı rapor edilmemişti (1) .

Tanı sırasında hastalarımızın %21 (n=7)'inde pulse metilprednizolon uygulanmıştı. Hızlı ve şiddetli hemoliz gelişen vakalarda öneren yayınlar bulunmaktadır (8, 13, 81) Ancak çalışmamızda pulse metilprednizolon hasta sayısı az olması nedeniyle klinik özellikleri açısından ayrıca karşılaştırma yapılmadı.

Steroid dozunu azaltmaya başlama süresi ortalama 17,9 (ortanca 21) gün idi. Tedavi seçimine göre nüks etme açısından fark saptanmadı. Tedaviye IVIG eşlik etmesi steroid dozunu azaltmaya başlama süresini değiştirmede. Ancak nüks eden hastalarda steroid dozunu azaltma süresinin daha uzun olduğu görüldü. Bu çalışmada nüks eden 20 hastanın beşinde (%25), remisyonda kalan 19 hastanın sekizinde (%42) steroid dozunun azaltılmaya başlama süresi 2 haftadan daha kısaydı. Nüksleri önleyebilmek için 2-4 hafta yüksek dozda steroid tedavisi önerilmektedir. Hızlı azaltmalarda nüks oranı fazladır (1, 83, 93) . Ancak bu çalışmada yanıt alınması nedeniyle 2 haftadan daha kısa sürede ilaç dozlarının azaltıldığı 12 hasta bulunmaktaydı. Bu sonuçlar hastalarımızdaki erken steroid doz azaltımının nükslerle ilişkili olmadığını düşündürdü. Bu çalışmada tedavide IVIG olan grup steroid alan grup ile farklı saptanmamıştı. Benzer şekilde Fan ve ark da IVIG tedavisinin prognozu değiştirmedeğini bildirmişti (86).

İki ve daha fazla nüks gösteren 13 hastamızın biri idiyopatik gruptayken dördünü Evans sendromu kalan kısmını da immun yetmezlikler oluşturmaktaydı. Bu hastalarımızın %46'sına ikinci sıra tedavi olarak anti CD-20 antikoru olan rituximab uygulandı. Bizim çalışmamızda hastaların üçü (%50)'si rituximab tedavisine yanıt

verdi (Şekil 4). Bu oran 5-61 hastanın dahil edildiği çocuk çalışmalarında % 60-85 olarak bildirilmiştir (67, 94-96). Rituximab tedavisine yanıtın 2-4 haftada sağlandığı bildirilmiştir (67). Bizim çalışmamızda da hastaların rituximab tedavisine yanıt süresi 2 haftadır. Yanıt oranının % 85'i bulduğu 15 hastalık seride hastaların yaklaşık yarısı Evans sendromu kalanı da idiyopatik gruptaydı. Ducasou ve ark yaptığı 61 hastayı içeren çalışmada ise hastaların %75'i yanıt verirken bunların yarısı tekrar etmişti. Bizim hastalarımızdan yanıt veren hastalardan biri Evans sendromu diğer ikisi ise Digeorge sendromuydu. Yanıt oranlarındaki farklılık gruplardaki hastalık dağılımlarının farklı olması ile ilişkili olabileceğini düşündük. Tüm çalışmaların ortak görüşü ise rituximab tedavisinin çocuklarda güvenli bulumasıdır (67, 95, 96)

Primer olarak T lenfositleri baskılayarak immun supresyon sağlayan siklosporin bizim çalışmamızda 7 (%17,5) hastadan ikisinde yanıt sağladı. Uygulanan doz 3-6 mg/kg idi. Sarper ve ark çalışmasında sikloporin uygulanan bir hastada yanıt sağlanmıştı (85). Bazı yazarlar splenektomi ve rituximab tedavisinden önce siklosporin verilmesini önermektedir (83) . Bu çalışmada siklosporin alan 7 hastadan üçü öncesinde rituximab almıştı (Şekil 4).

Mikofenolat mofetil alan 7 hastadan dördünde yanıt alınmıştı. Aladjidi ve ark çalışmasında 14 (%5) hastada üçüncü basamak tedavide mikofenolat mofetil kullanılmıştı. Yaralı ve ark.'nın çalışmasında ise mikofenolat alan hasta tüm tedavilere refrakter olup kaybedilmişti. Sarper ve ark çalışmasında ise ALPS olan 1 hastada uygulanmış ve yanıt alınmıştı.

Rapamisin alan iki hastamızda 2. haftada yanıt alınmıştı. Bir hasta idiopatik diğeri ise CTLA-4 haplo yetmezliği tanısı bulunmaktaydı. Rapamisin genellikle transplantasyon sonrası Evans sendromu ve otoimmün hemolitik anemide önerilmektedir (97, 98)

Danazol 10 mg/kg/ dozda refrakter olan bir hastamızda kullanıldı ancak yanıt alınamadı. Danazol ile ilgili bilgiler erişkin hastalardan elde edilmiştir. Daha çok steroid bağımlı hastalarda doz azaltmak için kullanılmaktadır (69) .

Bu çalışmada 4 (%10) hastaya splenektomi uygulandı. Aladji ve ark.'nın çalışmasında bu oran %13 olarak rapor edilmişti. Sarper ve ark.'nın çalışmasında ise Evans sendromlu 1 hastaya splenektomi yapılmıştı (85). Bizim çalışmamızda ise splenektomi uygulanan 2 hasta Evans sendromu, 1 hasta ALPS tanısı ile takip edilmekte idi. Bir hasta idiyopatik olarak tanımlanan grupta idi. Evans sendromunda

splenektominin yeri belli değildir. Splenektomi sonrası nüks olmaktadır (47, 48). ALPS hastalarında hastalığa özgü toksik durumlar ağırlaşacağı için sitopeni çok derin değilse önerilmemektedir (99).

Çalışmaya alınan DOCK-8 eksikliği ve Digeorge sendromu tanısı ile izlenen 2 hasta (%5,1) izlemde kaybedildi. En geniş çocuk çalışmasında ölüm oranı %4 olarak bildirilmiştir (1). Yaralı ve ark çalışmasında %4 ve Sarper ark çalışmasında ise %5 saptanmıştır. Ölümlerin çoğunu immun yetmezlikli hastalar oluşturmaktaydı.

Bu çalışmada çocukluk çağı immun hemolitik anemileri içinde yer alan sıcak tipte otoimmun hemolitik anemilerin klinik ve tedaviye yanıt özellikleri değerlendirildi. Bu grupta Evans sendromu, immun yetmezlikler gibi sekonder grubun önemli yer tuttuğu görülmektedir. Sekonder grupta ise kalıtsal geçişler nedeniyle kardeş öyküsü ve akrabalık daha fazla saptandı. Birinci basamak tedavide steroid kullanımında steroid tipinden bağımsız olarak %90'ın üzerinde yanıt alındığı görüldü. Nüks eden ve etmeyenler arasında steroid dozunu azaltma hızı açısından fark saptanmamıştır. Ayrıca tanı sırasındaki tedavide IVIG kullanımının prognostik önemi olmadığı görüldü. Bunların yanısıra bu seride çocuk hastalarda çok fazla deneyim bulunmayan rituximab, siklosporin, sirolimus ve danazol ile ilgili yanıtların değerlendirilmesinin bu alanda önemli katkı sağladığını düşünmekteyiz.

6. ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI

- ✓ Hemoliz belirteci olan haptoglobulin düzeyinin tanı sırasında ve izlemde düzenli olarak dosyalarda bulunmaması nedeniyle değerlendirilememiş olması
- ✓ İzlem süresi bir yıldan kısa olan 5 hastanın nüks için henüz yeterli süre izlenmemiş olması
- ✓ Hastaların nüks ettiği sürenin çalışmaya dahil edilmemiş olması
- ✓ Direkt antiglobulin testi pozitifliklerin hastalık seyrinde değerlendirilmemiş olması
- ✓ Tanı sırasında sarılık ve diğer fizik muayene bulgularına yeterli derecede ulaşamaması nedeniyle sunulamaması

7. SONUÇ

- ✓ 1997 -2019 yılları arasında Çocuk Hematoloji kliniğimizde OİHA tanısı ile izlenen 39 hastanın tedavi yanıtlarını, tedavi yanıtlarına etki edebilecek faktörleri araştırdığımız bu tez çalışmamızda;
- ✓ İlk atakta birinci basamak tedavide uygulanan seçimlerden IVIG, steroid ve IVIG+steroid kombinasyon tedavisinin hastalığın nüks etmesi açısından farklı olmadığı belirlenmiştir.
- ✓ Etyolojik açıdan hastalarımızı idiyopatik ve sekonder olarak sınıflandırdığımızda nüks oranı sekonder OİHA'li hastalarımızda daha yüksek saptanmıştır.
- ✓ İlk atakta birinci basamak tedavide steroid alan hastaların IVIG+ steroid birlikte uygulanan hastalar ile steroid doz azaltmaya başlama süresi karşılaştırıldığında gruplar arasında fark saptanmamıştır.
- ✓ İlk atakta birinci basamak tedavi ile remisyonda kalan hastalar ile nüks eden hastalar arasında tanı anındaki laboratuvar bulguları değerlendirildiğinde düzeltilmiş retikülosit yüzdesi ve MCV değeri nüks eden hastalarda daha yüksek , LDH ise daha düşük belirlenmiştir.

8. KAYNAKLAR

1. Aladjidi N, Leverger G, Leblanc T, Picat MQ, Michel G, Bertrand Y, et al. New insights into childhood autoimmune hemolytic anemia: a French national observational study of 265 children. *haematologica*. 2011;96(5):655-63.
2. Böttiger L, Westerholm B. ACQUIRED HAEMOLYTIC ANAEMIA: I. Incidence and Aetiology. *Acta Medica Scandinavica*. 1973;193(1-6):223-6.
3. Franco RS. Measurement of red cell lifespan and aging. *Transfusion medicine and hemotherapy*. 2012;39(5):302-7.
4. Kalfa TA. Warm antibody autoimmune hemolytic anemia. *Hematology*. 2016;2016(1):690-7.
5. Teachey DT, Lambert MP. Diagnosis and management of autoimmune cytopenias in childhood. *Pediatric Clinics*. 2013;60(6):1489-511.
6. Bass GF, Tuscano ET, Tuscano JM. Diagnosis and classification of autoimmune hemolytic anemia. *Autoimmunity reviews*. 2014;13(4-5):560-4.
7. Sokol R, Hewitt S, Stamps BK, Hitchen PA. Autoimmune haemolysis in childhood and adolescence. *Acta haematologica*. 1984;72(4):245-57.
8. Zanella A, Barcellini W. Treatment of autoimmune hemolytic anemias. *Haematologica*. 2014;99(10):1547-54.
9. Kim TO, Despotovic JM. Primary and Secondary Immune Cytopenias: Evaluation and Treatment Approach in Children. *Hematology/Oncology Clinics*. 2019;33(3):489-506.
10. Garratty G, Arndt P. An update on drug-induced immune hemolytic anemia. *Immunohematology*. 2007;23(3):105.
11. Coombs R, Mourant A, Race R. A new test for the detection of weak and "incomplete" Rh agglutinins. *British journal of experimental pathology*. 1945;26(4):255.
12. Zantek ND, Koepsell SA, Tharp Jr DR, Cohn CS. The direct antiglobulin test: a critical step in the evaluation of hemolysis. *American journal of hematology*. 2012;87(7):707-9.
13. Barros MM, Blajchman MA, Bordin JO. Warm autoimmune hemolytic anemia: recent progress in understanding the immunobiology and the treatment. *Transfusion medicine reviews*. 2010;24(3):195-210.
14. Qasim S. Background, presentation and pathophysiology of autoimmune hemolytic anemia. *Immune Hematology: Springer*; 2018. p. 83-102.
15. Michel M. Classification and therapeutic approaches in autoimmune hemolytic anemia: an update. *Expert review of hematology*. 2011;4(6):607-18.
16. Sokol R, Hewitt S, Stamps BK. Autoimmune haemolysis: an 18-year study of 865 cases referred to a regional transfusion centre. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1981;282(6281):2023-7.
17. Barcellini W. New insights in the pathogenesis of autoimmune hemolytic anemia. *Transfusion medicine and hemotherapy*. 2015;42(5):287-93.
18. Barcellini W, Clerici G, Montesano R, Taioli E, Morelati F, Rebulli P, et al. In vitro quantification of anti-red blood cell antibody production in idiopathic autoimmune haemolytic anaemia: effect of mitogen and cytokine stimulation. *British journal of haematology*. 2000;111(2):452-60.
19. Ahmad E, Elgohary T, Ibrahim H. 7 Naturally Occurring Regulatory T Cells and Interleukins 10 and 12 in the Pathogenesis of Idiopathic Warm Autoimmune Hemolytic Anemia. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*. 2011;21(4):297.
20. Berentsen S. Role of complement in autoimmune hemolytic anemia. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2015;42(5):303-10.
21. Engelfriet C, OVERBEEKE MM, Von Dem Borne AK, editors. *Autoimmune hemolytic anemia*. *Seminars in hematology*; 1992.
22. Quist E, Koepsell S. Autoimmune hemolytic anemia and red blood cell autoantibodies. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2015;139(11):1455-8.
23. Naik R. Warm autoimmune hemolytic anemia. *Hematology/Oncology Clinics*. 2015;29(3):445-53.
24. Shulman IA, Branch DR, Nelson JM, Thompson JC, Saxena S, Petz LD. Autoimmune hemolytic anemia with both cold and warm autoantibodies. *Jama*. 1985;253(12):1746-8.
25. Shanbhag S, Spivak J. Paroxysmal cold hemoglobinuria. *Hematology/Oncology Clinics*. 2015;29(3):473-8.
26. Pirofsky B. Clinical aspects of autoimmune hemolytic anemia. 1976.

27. Liebman HA, Weitz IC. Autoimmune hemolytic anemia. *The Medical clinics of North America*. 2017;101(2):351.
28. Pullarkat V, Ngo M, Iqbal S, Espina B, Liebman HA. Detection of lupus anticoagulant identifies patients with autoimmune haemolytic anaemia at increased risk for venous thromboembolism. *British journal of haematology*. 2002;118(4):1166-9.
29. 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. *American journal of hematology*. 2014;89(9):E150-E5.
30. Conley CL, Lippman SM, Ness PM, Petz LD, Branch DR, Gallagher MT. Autoimmune hemolytic anemia with reticulocytopenia and erythroid marrow. *New England Journal of Medicine*. 1982;306(5):281-6.
31. Liesveld JL, Rowe JM, Lichtman MA. Variability of the erythropoietic response in autoimmune hemolytic anemia: analysis of 109 cases. 1987.
32. EVANS RS, Takahashi K, DUANE RT, Payne R, Liu C-K. Primary thrombocytopenic purpura and acquired hemolytic anemia: evidence for a common etiology. *AMA archives of internal medicine*. 1951;87(1):48-65.
33. Marchand A, Galen RS, Van Lente F. The predictive value of serum haptoglobin in hemolytic disease. *Jama*. 1980;243(19):1909-11.
34. Lai M, Visconti E, D'Onofrio G, Tamburrini E, Cauda R, Leone G. Lower hemoglobin levels in human immunodeficiency virus–infected patients with a positive direct antiglobulin test (DAT): relationship with DAT strength and clinical stages. *Transfusion*. 2006;46(7):1237-43.
35. Segel GB, Lichtman MA. Direct antiglobulin (“Coombs”) test-negative autoimmune hemolytic anemia: a review. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2014;52(4):152-60.
36. Sève P, Philippe P, Dufour J-F, Broussolle C, Michel M. Autoimmune hemolytic anemia: classification and therapeutic approaches. *Expert review of hematology*. 2008;1(2):189-204.
37. Nathan DG, Oski FA. *Hematology of infancy and childhood*. 1987.
38. Berentsen S. How I manage cold agglutinin disease. *British journal of haematology*. 2011;153(3):309-17.
39. Dacie J. Auto-immune hemolytic anemia. *Prog Hematol*. 1969;7:82-119.
40. Sokol R, Booker D, Stamps R. The pathology of autoimmune haemolytic anaemia. *Journal of clinical pathology*. 1992;45(12):1047.
41. Eaton WW, Rose NR, Kalaydjian A, Pedersen MG, Mortensen PB. Epidemiology of autoimmune diseases in Denmark. *Journal of autoimmunity*. 2007;29(1):1-9.
42. Bussel J, Cunningham-Rundles C, Abraham C. Intravenous Treatment of Autoimmune Hemolytic Anemia with Very High Dose Gammaglobulin 1. *Vox sanguinis*. 1986;51(4):264-9.
43. Grimes AB. Evans syndrome: background, clinical presentation, pathophysiology, and management. *Immune Hematology: Springer*; 2018. p. 125-50.
44. Miano M. How I manage Evans Syndrome and AIHA cases in children. *British journal of haematology*. 2016;172(4):524-34.
45. Ghosh S, Seidel MG. Current Challenges in immune and other acquired Cytopenias of Childhood. *Frontiers in Pediatrics*. 2016;4:3.
46. Seidel MG. Autoimmune and other cytopenias in primary immunodeficiencies: pathomechanisms, novel differential diagnoses, and treatment. *Blood*. 2014;124(15):2337-44.
47. Mathew P, Chen G, Wang W. Evans syndrome: results of a national survey. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 1997;19(5):433-7.
48. Wang WC. Evans syndrome in childhood: pathophysiology, clinical course, and treatment. *The American journal of pediatric hematology/oncology*. 1988;10(4):330-8.
49. Rieux-Laucat F, Le Deist F, Fischer A. Autoimmune lymphoproliferative syndromes: genetic defects of apoptosis pathways. *Cell Death & Differentiation*. 2003;10(1):124-33.
50. Sneller MC, Wang J, Dale JK, Strober W, Middelton LA, Choi Y, et al. Clinical, immunologic, and genetic features of an autoimmune lymphoproliferative syndrome associated with abnormal lymphocyte apoptosis. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 1997;89(4):1341-8.
51. Straus SE, Jaffe ES, Puck JM, Dale JK, Elkon KB, Rösen-Wolff A, et al. The development of lymphomas in families with autoimmune lymphoproliferative syndrome with germline Fas mutations and defective lymphocyte apoptosis. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2001;98(1):194-200.

52. Patuzzo G, Barbieri A, Tinazzi E, Veneri D, Argentino G, Moretta F, et al. Autoimmunity and infection in common variable immunodeficiency (CVID). *Autoimmunity reviews*. 2016;15(9):877-82.
53. Levy DM, Kamphuis S. Systemic lupus erythematosus in children and adolescents. *Pediatric Clinics*. 2012;59(2):345-64.
54. Miescher P, Tucci A, Beris P, Favre H, editors. Autoimmune hemolytic anemia and/or thrombocytopenia associated with lupus parameters. *Seminars in hematology*; 1992.
55. Comellas-Kirkerup L, Hernández-Molina G, Cabral AR. Antiphospholipid-associated thrombocytopenia or autoimmune hemolytic anemia in patients with or without definite primary antiphospholipid syndrome according to the Sapporo revised classification criteria: a 6-year follow-up study. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2010;116(16):3058-63.
56. Garratty G. Immune hemolytic anemia associated with drug therapy. *Blood reviews*. 2010;24(4-5):143-50.
57. Ahrens N, Genth R, Kiesewetter H, Salama A. Misdiagnosis in patients with diclofenac-induced hemolysis: new cases and a concise review. *American journal of hematology*. 2006;81(2):128-31.
58. Garbe E, Andersohn F, Bronder E, Klimpel A, Thomae M, Schrezenmeier H, et al. Drug induced immune haemolytic anaemia in the Berlin Case-Control Surveillance Study. *British journal of haematology*. 2011;154(5):644-53.
59. Brodsky RA. Warm autoimmune hemolytic anemia. *New England Journal of Medicine*. 2019;381(7):647-54.
60. Dearden C. UK National Cancer Research Institute (NCRI); Hematological Oncology Clinical Studies Group; NCRI CLL Working Group. The prognostic significance of a positive direct antiglobulin test in chronic lymphocytic leukemia: a beneficial effect of the combination of fludarabine and cyclophosphamide on the incidence of hemolytic anemia. *Blood*. 2008;111:1820-6.
61. Vagace JM, Bajo R, Gervasini G. Diagnostic and therapeutic challenges of primary autoimmune haemolytic anaemia in children. *Archives of disease in childhood*. 2014;99(7):668-73.
62. Wilkinson LS, Petz LD, Garratty G. Reappraisal of the role of anti-i in haemolytic anaemia in infectious mononucleosis. *British journal of haematology*. 1973;25(6):715-22.
63. Petz LD, Garratty G. *Acquired immune hemolytic anemias*: Churchill Livingstone; 1980.
64. Petz LD. Cold antibody autoimmune hemolytic anemias. *Blood reviews*. 2008;22(1):1-15.
65. Özsoylu F. Megadose methylprednisolone for the treatment of patients with Evans syndrome. *Pediatric hematology and oncology*. 2004;21(8):739-40.
66. Dierickx D, Verhoef G, Van Hoof A, Mineur P, Roest A, Triffet A, et al. Rituximab in autoimmune haemolytic anaemia and immune thrombocytopenic purpura: a Belgian retrospective multicentric study. *Journal of internal medicine*. 2009;266(5):484-91.
67. Zecca M, Nobili B, Ramenghi U, Perrotta S, Amendola G, Rosito P, et al. Rituximab for the treatment of refractory autoimmune hemolytic anemia in children. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2003;101(10):3857-61.
68. Rao A, Kelly M, Musselman M, Ramadas J, Wilson D, Grossman W, et al. Safety, efficacy, and immune reconstitution after rituximab therapy in pediatric patients with chronic or refractory hematologic autoimmune cytopenias. *Pediatric blood & cancer*. 2008;50(4):822-5.
69. Pignon JM, Poirson E, Rochant H. Danazol in autoimmune haemolytic anaemia. *British journal of haematology*. 1993;83(2):343-5.
70. Agnello V, Pariser K, Gell J, Gelfand J, Turksoy R. Preliminary observations on danazol therapy of systemic lupus erythematosus: effects on DNA antibodies, thrombocytopenia and complement. *J Rheumatol*. 1983;10(5):682-7.
71. Ahn YS. Efficacy of danazol in hematologic disorders. *Acta haematologica*. 1990;84(3):122-9.
72. Packman CH. Hemolytic anemia due to warm autoantibodies. *Blood reviews*. 2008;22(1):17-31.
73. Liu H, Shao Z, Jing L. The effectiveness of cyclosporin A in the treatment of autoimmune hemolytic anemia and Evans syndrome. *Zhonghua xue ye xue za zhi= Zhonghua xueyexue zazhi*. 2001;22(11):581-3.
74. Zimmer-Molsberger B, Knauf W, Thiel E. Mycophenolate mofetil for severe autoimmune haemolytic anemia. *Lancet (British edition)*. 1997;350(9083):1003-4.
75. Miano M, Calvillo M, Palmisani E, Fioredda F, Micalizzi C, Svahn J, et al. Sirolimus for the treatment of multi-resistant autoimmune haemolytic anaemia in children. *British journal of haematology*. 2014;167(4):571-4.

76. Flores G, Cunningham-Rundles C, Newland AC, Bussel JB. Efficacy of intravenous immunoglobulin in the treatment of autoimmune hemolytic anemia: results in 73 patients. *American journal of hematology*. 1993;44(4):237-42.
77. Casaccia M, Torelli P, Squarcia S, Sormani M, Savelli A, Troilo B, et al. Laparoscopic splenectomy for hematologic diseases: a preliminary analysis performed on the Italian Registry of Laparoscopic Surgery of the Spleen (IRLSS). *Surgical Endoscopy and Other Interventional Techniques*. 2006;20(8):1214-20.
78. Bowdler A, editor *The role of the spleen and splenectomy in autoimmune hemolytic disease*. *Seminars in hematology*; 1976.
79. Berentsen S, Tjønnfjord GE. Diagnosis and treatment of cold agglutinin mediated autoimmune hemolytic anemia. *Blood reviews*. 2012;26(3):107-15.
80. Otoimmun Hemolitik Anemi Tanı ve Tedavi Kılavuzu 2011.
81. Jaime-Pérez JC, Rodríguez-Martínez M, Gómez-de-León A, Tarín-Arzaga L, Gómez-Almaguer D. Current approaches for the treatment of autoimmune hemolytic anemia. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*. 2013;61(5):385-95.
82. Sankaran J, Rodriguez V, Jacob EK, Kreuter JD, Go RS. Autoimmune hemolytic anemia in children: Mayo Clinic experience. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2016;38(3):e120-e4.
83. Naithani R, Agrawal N, Mahapatra M, Kumar R, Pati H, Choudhry V. Autoimmune hemolytic anemia in children. *Pediatric hematology and oncology*. 2007;24(4):309-15.
84. Gupta V, Shukla J, Bhatia B. Autoimmune hemolytic anemia. *The Indian Journal of Pediatrics*. 2008;75(5):451-4.
85. Sarper N, Kılıç SÇ, Zengin E, Gelen SA. Management of autoimmune hemolytic anemia in children and adolescents: A single center experience. *Turkish Journal of Hematology*. 2011;28(3).
86. Fan J, He H, Zhao W, Wang Y, Lu J, Li J, et al. Clinical features and treatment outcomes of childhood autoimmune hemolytic anemia: a retrospective analysis of 68 cases. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. 2016;38(2):e50-e5.
87. Habibi B, Homberg J-C, Schaison G, Salmon C. Autoimmune hemolytic anemia in children: a review of 80 cases. *The American journal of medicine*. 1974;56(1):61-9.
88. Heisel M, Ortega JA. Factors influencing prognosis in childhood autoimmune hemolytic anemia. *The American journal of pediatric hematology/oncology*. 1983;5(2):147-52.
89. ZUPANASKA B, Lawkowicz W, Gorska B, Kozłowska J, Ochocka M, Rokicka-Milewska R, et al. Autoimmune haemolytic anaemia in children. *British journal of haematology*. 1976;34(3):511-20.
90. Yaralı N, Bilir ÖA, Erdem AY, Çulha V, Kara A, Özbek N. Clinical features and treatment of primary autoimmune hemolytic anemia in childhood. *Transfusion and Apheresis Science*. 2018;57(5):665-8.
91. Oliveira M, Oliveira BM, Murao M, Vieira ZM, Gresta LT, Viana MB. Clinical course of autoimmune hemolytic anemia: an observational study. *J Pediatr (Rio J)*. 2006;82(1):58-62.
92. Salama A. Drug-induced immune hemolytic anemia. *Expert opinion on drug safety*. 2009;8(1):73-9.
93. Collins P, Newland A, editors. *Treatment modalities of autoimmune blood disorders*. *Seminars in hematology*; 1992.
94. Ducassou S, Leverger G, Fernandes H, Chambost H, Bertrand Y, Armari-Alla C, et al. Benefits of rituximab as a second-line treatment for autoimmune haemolytic anaemia in children: a prospective French cohort study. *British Journal of Haematology*. 2017;177(5):751-8.
95. Quartier P, Brethon B, Philippet P, Landman-Parker J, Fischer A. Treatment of childhood autoimmune haemolytic anaemia with rituximab. *The Lancet*. 2001;358(9292):1511-3.
96. Kim J, Thrasher A, Jones A, Davies E, Cale C. Rituximab for the treatment of autoimmune cytopenias in children with immune deficiency. *British journal of haematology*. 2007;138(1):94-6.
97. Valentini RP, Imam A, Warrior I, Ellis D, Ritchey AK, Ravindranath Y, et al. Sirolimus rescue for tacrolimus-associated post-transplant autoimmune hemolytic anemia. *Pediatric transplantation*. 2006;10(3):358-61.
98. Acquazzino MA, Fischer RT, Langnas A, Coulter DW. Refractory autoimmune hemolytic anemia after intestinal transplant responding to conversion from a calcineurin to mTOR inhibitor. *Pediatric transplantation*. 2013;17(5):466-71.
99. Rao VK, Oliveira JB. How I treat autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2011;118(22):5741-51.

9. ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Seranay Çetinoğlu

Doğum yeri ve tarihi: Konak 13/09/1991

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu: seranay.cetinoglu@saglik.gov.tr

srn.y@windowslive.com +90 (537) 029 58 44

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi

2016-2020 S.B.Ü. Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi E.A.H.

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Asistan eğitimi

2009-2015 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

2005-2009 İzmir 60. Yıl Anadolu Lisesi

1997-2009 İzmir Mehmet Akif Ersoy İlköğretim Okulu

III- Ünvanları (tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru)

Tıp Doktoru 2015

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Asistan Hekimi 2016

IV- Mesleki Deneyimi

2015-2016 Kütahya Evliya Çelebi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Pratisyen hekim

2016-2020 S.B.Ü. Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi E.A.H. , Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Asistan Hekimi

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI- Bilimsel İlgi Alanları

- Çocuk Hematoloji
- Çocuk İmmunoloji
- Çocuk Acil ve Yoğun Bakım

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Aldığı burslar

Ödüller

Projeleri

Verdiği konferans ya da seminerler

Katıldığı paneller (panelist olarak)

VIII- Diğer Bilgiler

Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve katıldığı eğitim seminerleri

Organizasyonunda katkıda bulunduğu bilimsel toplantılar

Diğer üyelikleri

10. EKLER

EK 1. STROBE (THE STRENGTHENING THE REPORTING OF OBSERVATIONAL STUDIES IN EPIDEMIOLOGY) KILAVUZU KONTROL LİSTESİ

STROBE Statement—Checklist of items that should be included in reports of **cohort studies**

	Item No	Recommendation	Page No
Title and abstract	1	(a) Indicate the study’s design with a commonly used term in the title or the abstract	vii
		(b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found	vii
Introduction			
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported	1
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses	2
Methods			
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper	22
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection	22
Participants	6	(a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants. Describe methods of follow-up	22
		(b) For matched studies, give matching criteria and number of exposed and unexposed	
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable	23
Data sources/ measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group	23
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias	25
Study size	10	Explain how the study size was arrived at	22
Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why	24
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding	25
		(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions	25
		(c) Explain how missing data were addressed	25
		(d) If applicable, explain how loss to follow-up was addressed	25
		(e) Describe any sensitivity analyses	25

	Item No	Recommendation	Page No
Results			
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed	25
		(b) Give reasons for non-participation at each stage	-
		(c) Consider use of a flow diagram	-
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders	25-26
		(b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest	-
		(c) Summarise follow-up time (eg, average and total amount)	26
Outcome data	15*	Report numbers of outcome events or summary measures over time	27-38
Main results	16	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included	27-38
		(b) Report category boundaries when continuous variables were categorized	
		(c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period	
Other analyses	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses	27-38
Discussion			
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives	39-43
Limitations	19	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias	44
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence	44-45
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results	45
Other information			
Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based	

-Vandenbroucke JP, von Elm E, Altman DG, Gotsche PC, Mulrow CD, Pocock SJ, Poole C, Schlesselman JJ, Egger M. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): Explanation and Elaboration. PLoS Med. 2007;4(10):e297