



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ - ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

**Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ-ΟΓΚΟΛΟΓΙΑ ΠΑΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΕΦΗΒΩΝ**



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΚΗ ΗΛΙΚΙΑ:
ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΕΜΠΕΙΡΙΑΣ ΕΝΟΣ ΚΕΝΤΡΟΥ ΚΑΙ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ**

Άλκηστις Αδραμερινά

Παιδίατρος

Ηράκλειο, Ιούνιος 2021

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. Ευτυχία Στειακάκη

Καθηγήτρια Παιδιατρικής Αιματολογίας- Ογκολογίας

2. Μαρίνα Οικονόμου

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Παιδιατρικής Αιματολογίας

3. Χαράλαμπος Ποντίκογλου

Αναπληρωτής Καθηγητής Αιματολογίας

© 2021

Άλκηστις Αδραμερινά

ALL RIGHTS RESERVED

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
Περίληψη	6
Abstract	8
Συνοτομογραφίες	10
1. Εισαγωγή	11
1.1. Τύποι Αυτοάνοσης Αιμολυτικής Αναιμίας	
Θερμού τύπου	13
<i>Σύνδρομο Evans</i>	16
Ψυχρού τύπου	17
Μικτού τύπου	18
Παροξυντική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία	19
Φαρμακο-επαγόμενη	21
1.2. Παθογένεση	
Αιμόλυση	22
Διαταραχές λειτουργίας ανοσιακού συστήματος	25
Γενετικό υπόστρωμα	28
1.3. Κλινική εικόνα	29
1.4. Διάγνωση	30
Άμεση δοκιμασία αντισφαιρινικού ορού	33
Δοκιμασία Donath-Landsteiner	36
1.5. Θεραπεία	36
ΑΑΑ θερμού τύπου	37
ΑΑΑ ψυχρού τύπου	46
Παροξυντική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία	47

1.6.	Δευτεροπαθής AAA – Υποκείμενα Νοσήματα	47
	Αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο	48
	Κοινή ποικίλη ανοσοανεπάρκεια	50
	Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος	51
	Γιγαντοκυτταρική Ηπατίτιδα	52
	Σύνδρομο Wiskott-Aldrich	52
	Ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος εντέρου	52
	Νεοπλασίες	53
	Μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών οργάνων και συμπαγών οργάνων	54
2.	Σκοπός παρούσας μελέτης - Μεθοδολογία	55
3.	Αποτελέσματα	56
4.	Συζήτηση	63
5.	Συμπεράσματα	67
6.	Βιβλιογραφία	68

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τίτλος : Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία στην παιδική ηλικία:

Καταγραφή της εμπειρίας ενός κέντρου και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας

Της: Άλκηστις Αδραμερινά

Τριμελής Εξεταστική επιτροπή

1. Ευτυχία Στειακάκη
2. Μαρίνα Οικονόμου
3. Χαράλαμπος Ποντίκογλου

Ημερομηνία: Ιούνιος 2021

Η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (AAA) χαρακτηρίζεται από πρόωρη καταστροφή ερυθροκυττάρων, αποτέλεσμα της δράσης αυτο-αντισωμάτων έναντι ερυθροκυτταρικών αντιγόνων, με ή χωρίς τη συμμετοχή του συμπληρώματος. Η κλινική πορεία της νόσου ποικίλλει από ήπια μέχρι σοβαρή ή, ακόμη, και απειλητική για τη ζωή κατάσταση. Με βάση το υπεύθυνο αυτο-αντίσωμα η AAA διακρίνεται σε θερμού, ψυχρού, μικτού τύπου ή σε παροξυντική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία. Ανάλογα με την παρουσία ή όχι εμφανούς αιτίας, το νόσημα μπορεί να είναι πρωτοπαθές ή δευτεροπαθές. Τόσο στην πρωτοπαθή όσο και τη δευτεροπαθή AAA, πρώτης γραμμής θεραπεία αποτελεί η πρεδνιζολόνη, με ανταπόκριση σε 81-100% των παιδιατρικών ασθενών, ενώ η καλύτερα μελετημένη δεύτερης γραμμής θεραπεία είναι η ριτουξιμάμπη. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αναδρομική ανασκόπηση ιατρικών φακέλων παιδιατρικών ασθενών που διαγνώστηκαν με AAA σε παιδο-αιματολογικό κέντρο της Βορείου Ελλάδος από το 2002 μέχρι το 2020, καθώς και η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. Τον πληθυσμό της μελέτης αποτέλεσαν 35 παιδιά και έφηβοι, για τους οποίους καταγράφηκαν τα δημογραφικά στοιχεία, τα κλινικοεργαστηριακά ευρήματα και η χορηγηθείσα θεραπεία, τόσο κατά τη διάγνωση όσο και κατά την μετέπειτα περίοδο παρακολούθησης. Παρατηρήθηκε ίδια αναλογία στα δύο φύλα, με μέση ηλικία διάγνωσης τα 5,5 έτη και μέσο χρόνο παρακολούθησης 5,1 έτη. Οι 22/35 (63%) εμφάνισαν ένα μοναδικό επεισόδιο AAA, ενώ οι υπόλοιποι 13 (39%) παρουσίασαν περισσότερα τους ενός επεισόδια, με κατά μέσο όρο αριθμό υποτροπών 3,3. Η μέση τιμή αιμοσφαιρίνης (Hb) ήταν 7,7 g/dl κατά τη διάγνωση, με σοβαρή αναιμία να εμφανίζεται σε 10 (32,2%) ασθενείς. Η πλειονότητα των ασθενών

(28/35, 80%) παρουσίασε AAA θερμού τύπου και 7 (20%) ασθενείς διεγνώσθησαν με παροξυντική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία. Η παρουσία υποστρώματος ήταν γνωστή κατά το πρώτο επεισόδιο σε 3 (8,6%) ασθενείς, ενώ κατά την πορεία παρακολούθησης συνολικά 11 (31,4%) παιδιά διαγνώστηκαν με δευτεροπαθή AAA. Από τους παραπάνω ασθενείς, 7 (20%) δεν έλαβαν καμία θεραπεία, 20 (57,1%) έλαβαν συνδυαστική αγωγή γ-σφαιρίνης και κορτικοστεροειδών, 4 (11,4%) μόνο κορτικοστεοειδή, 2 (5,7%) μόνο γ-σφαιρίνη, ενώ 2 (5,7%) έλαβαν εξ αρχής συνδυασμό κορτικοστεοειδών με δεύτερης γραμμής θεραπεία λόγω γνωστού υποστρώματος. Πλήρη ανταπόκριση μετά την πρώτης γραμμής θεραπεία επέδειξαν 24 από τους 26 (92,3%) ασθενείς. Μερική ανταπόκριση ή απουσία ανταπόκρισης παρατηρήθηκε σε 2 (7,7%) παιδιά. Κατά το τέλος της παρακολούθησης, όλοι οι ασθενείς ήταν εν ζωή. Συνεχί πλήρη ανταπόκριση χωρίς ανάγκη αγωγής παρουσίαζαν 33/35 (94,3%) ασθενείς, ενώ οι υπόλοιποι 2 (5,7%) λάμβαναν ακόμα θεραπεία κατά το τέλος της μελέτης. Τα αποτελέσματα της σειράς αυτής ασθενών συμφωνούν σε μεγάλο βαθμό με αποτελέσματα προηγούμενων παρόμοιων μελετών, ενώ βασική διαφοροποίηση αποτελεί η παρουσία μηδενικής θνητότητας. Αξιοσημείωτη είναι η διεύρυνση της ομάδας των δευτεροπαθών AAA κατά την πορεία της παρακολούθησης των ασθενών, στην οποία συμβάλλει η πρόοδος της γονιδιακής ανάλυσης. Τέλος, περιορισμένα παραμένουν τα στοιχεία σχετικά με την χορηγούμενη θεραπεία δεύτερης γραμμής, ενώ επί του παρόντος παραμένει η χρήση τους "εκτός ενδείξεων". Λόγω της σπανιότητας του νοσήματος, της δυνητικά πολύπλοκης πορείας ή και θανατηφόρας έκβασης, καθώς και της ένδειας κλινικών μελετών σχετικά με την εφαρμογή νέων θεραπειών, κρίνεται βαρύνουσας σημασίας μια διεθνής πολυκεντρική καταγραφή των περιστατικών, ώστε να συλλεχθεί γνώση και εμπειρία η οποία θα καθοδηγήσει την αντιμετώπιση της νόσου.

Λέξεις – κλειδιά : αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, αυτο-αντίσωμα, θερμού τύπου, ψυχρού τύπου, παιδιατρικός πληθυσμός, άμεση δοκιμασία αντισφαιρινικού ορού, θεραπεία πρώτης γραμμής, θεραπεία δεύτερης γραμμής

ABSTRACT

Title: Autoimmune hemolytic anemia in children and adolescents: A single-center experience and literature review

By: Alkistis Adramerina

Three Member Evaluating Committee

1. Eftichia Steiakaki
2. Marina Economou
3. Charalambos Pontikoglou

Date: June 2021

Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) is characterized by premature destruction of erythrocytes, due to auto-antibodies directed against antigens on surface, with or without complement involvement. The clinical course of AIHA varies from mild to severe or even life-threatening forms. Based on the pathogenic antibody class, the disease is classified as warm, cold, mixed AIHA or paroxysmal cold hemoglobinuria (PCH). AIHA can be idiopathic or secondary to underlying systemic illnesses. First line therapy includes corticosteroids, with response in 81-100% of children with primary or secondary AIHA, while better studied second line treatment is rituximab. The aim of the present retrospective study is to report on clinical course and treatment outcome of pediatric patients diagnosed with AIHA and followed in a single pediatric hematology department in Northern Greece, during the period 2002-2020, as well as review of related literature. Thirty-five children and adolescents were enrolled. Demographic, clinical and laboratory data as well as therapy administered at diagnosis and during follow up period were collected. Sex ratio was 1:1, mean age of diagnosis 5.5 years and mean follow up period 5.1 years. Out of 35 patients, 22 (63%) experienced a single AIHA episode and the rest 13 (39%) presented one or more relapses, with mean number of relapses 3.3. Mean hemoglobin (Hb) level was 7.7g/dl at diagnosis, whilst 10 (32.2%) patients presented with severe anemia. Warm AIHA was diagnosed in the majority of them (28/35, 80%) while PCH in the remaining 7 (20%). Three patients (8.6%) presented with a known underlying condition at diagnosis, while 11 children were diagnosed with secondary AIHA during follow up. As for treatment, 7 (20%) patients did not require any therapy, 20 (57,1%) received

combined therapy with corticosteroids and intravenous immunoglobulin, 4 (11,4%) corticosteroids, 2 (5.7%) intravenous immunoglobulin and 2 (5.7%) corticosteroids with second line treatment due to known underlying disease. Complete response after first line treatment was present in 24 out of 26 (92.3%) patients. Partial or no response was recorded in 2 (7.7%) children. All patients were alive at last follow up. Thirty-three (94.3%) patients demonstrated continuous complete response without need for further treatment and 2 (5.7%) still received immunomodulatory drugs at the end of study. Even though study results largely agree with previous similar studies, key difference of the present study is the absence of reported mortality. Furthermore, diagnosis of secondary AIHA was revealed in many cases remarkably during follow up period, mostly as a result of genetic analysis progress. With regards to literature data available on second line treatment, it is scarce, with most immunomodulatory drugs remaining as off label for use in pediatric AIHA. As pediatric AIHA is a rare disease with potentially complicated clinical course or even fatal outcome and as clinical trials are missing, establishing an international multicenter registry would be of great value, in order to report on knowledge and experience and guide disease management worldwide.

Key-words: autoimmune hemolytic anemia, auto-antibody, warm autoimmune hemolytic anemia, cold autoimmune hemolytic anemia, children, direct antiglobulin test, first line treatment, second line treatment

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

AAA Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία
ALPS Αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο
CA Ψυχροσυγκολλητίνη
CAD Νόσος εκ ψυχροσυγκολλητινών
CAS Σύνδρομο των ψυχροσυγκολλητινών
CD4+ T- βοηθητικά κύτταρα
CD8+ T- κυτταροτοξικά κύτταρα
CTLA-4 Κυτταροτοξικό T λεμφοκυτταρικό αντιγόνο 4
CVID Κοινή ποικίλη ανοσοανεπάρκεια
DAT Άμεση δοκιμασία αντισφαιρινικού ορού
diAIHA Φαρμακο-επαγόμενη αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία
DNT Διπλά αρνητικά T- κύτταρα
ES Σύνδρομο Evans
GCH Γιγαντοκυτταρική ηπατίτιδα
Hb Αιμοσφαιρίνη
HSCT Μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων
IAT Έμμεση δοκιμασία αντισφαιρινικού ορού
IFN γ Ιντερφερόνη γ
IL Ιντερλευκίνη
LDH Γαλακτική δεϋδρογονάσης
LRBA Lipopolysaccharide-responsive beige-like anchor protein
MMF Mycophenolate mofetil
PCH Παροξυντική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία
SLE Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος
Th T- βοηθητικό κύτταρο
Treg T- ρυθμιστικό κύτταρο
wAIHA Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία θερμού τύπου
WAS Σύνδρομο Wiskott-Aldrich
WBE Ολική αφαιμαξομετάγγιση

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (AAA) χαρακτηρίζεται από πρόωρη καταστροφή ερυθροκυττάρων, αποτέλεσμα της δράσης αυτοαντισωμάτων έναντι ερυθροκυτταρικών αντιγόνων, με ή χωρίς τη συμμετοχή του συμπληρώματος (Kalfa, 2016). Η πρώτη περιγραφή της AAA, ως νόσημα, έγινε το 1951. Ιστορικά, ήδη από το 400 π.Χ, η σχολή του Ιπποκράτη προσπάθησε να συσχετίσει συστατικά του αίματος με την υγεία και την ασθένεια, διατυπώνοντας τη θεωρία των τεσσάρων χυμών του σώματος. Πολύ αργότερα, το 1843, ο Andral μελέτησε και περιέγραψε την «ιδιοπαθή αναιμία», ως νόσο χωρίς προηγούμενη απώλεια αίματος και τυπικά σχετιζόμενη με υπέρχρωση ούρων. Το 1898, ο Hayem διέκρινε την αιμολυτική αναιμία με παρουσία ικτέρου από τα ηπατικά νοσήματα, ενώ ακολούθησε η πρώτη περιγραφή της συγγενούς και επίκτητης αιμολυτικής αναιμίας. Στις αρχές του 1900, η πρόοδος στην κατανόηση της αιματολογίας, οδήγησε στην αναφορά της από αυτοαντίσωμα – επαγώμενης αιμολυτικής αναιμίας από τους Donath και Landsteiner, μέχρι την ειδικότερη περιγραφή της νόσου περίπου 50 χρόνια αργότερα (Bass, et al., 2014).

Η AAA είναι σπάνια νόσος, η οποία παρουσιάζει μεγάλη ετερογένεια και μπορεί να αφορά κάθε ηλικία (Fan, et al., 2016) (Kalfa, 2016). Στο γενικό πληθυσμό, η ετήσια επίπτωση της υπολογίζεται σε 1-3/100000 ανθρώπους, ενώ αφορά περίπου 0,2/100000 παιδιά, με συχνότερη εμφάνιση στην προσχολική ηλικία (Jastaniah, et al., 2004) (Kim & Despotovic, 2019). Πιθανόν, ωστόσο, η συχνότητα της νόσου να υποεκτιμάται, αποτέλεσμα υποδιάγνωσης (Jäger, et al., 2020). Η υπόθεση αυτή ενισχύεται από πρόσφατη γαλλική μελέτη, σε τοπικό επίπεδο, που ανέδειξε ετήσια επίπτωση 0,81/100000 παιδιά <18ετών. Η θνητότητα της AAA κυμαίνεται από 4 έως 10%, γεγονός που καταδεικνύει την ανάγκη έγκαιρης διάγνωσης (Aladjidi, et al., 2017).

Η AAA ορίζεται ως παρουσία αναιμίας, δηλαδή, μείωση των επιπέδων αιμοσφαιρίνης σε χαμηλότερα από τα φυσιολογικά για την ηλικία και το φύλο επίπεδα, και ταυτόχρονη παρουσία θετικής άμεσης δοκιμασία αντισφαιρίνης και σημείων αιμόλυσης, όπως δικτυοερυθροκυττάρωση, έμμεση υπερχολερυθριναιμία, αύξηση γαλακτικής δεϋδρογονάσης και μείωση απτοσφαιρίνης (Rivalta, et al., 2019). Ανάλογα με την παρουσία ή όχι εμφανούς αιτίας, το νόσημα χαρακτηρίζεται πρωτοπαθές (37%), μεταλοιμώδες (10%) ή δευτεροπαθές (53%) (Ladogana, et al., 2017). Σε αντίθεση με τους ενήλικες, η αιτία της νόσου παρουσιάζει διαφορές στις διαφορετικές ηλικιακές ομάδες του παιδιατρικού πληθυσμού. Στη βρεφική ηλικία ενοχοποιούνται

κυρίως ιογενείς και βακτηριακές λοιμώξεις, ενώ στην εφηβική ηλικία η εκδήλωση AAA σχετίζεται συχνά με υποκείμενες συστηματικές διαταραχές, όπως αυτοάνοσα νοσήματα και ανοσοανεπάρκειες (Sankaran, et al., 2016).

Αν και μία ιογενής λοίμωξη καταδεικνύεται συχνά ως πιθανό έναυσμα για εκδήλωση της νόσου, δεν είναι σαφές σε ποιο άτομο θα οδηγήσει, τελικά, σε αιμόλυση και σε ποιο όχι. Πολλοί παθογόνοι μικροοργανισμοί έχουν συσχετισθεί με την εκδήλωση AAA, όπως παρβοϊός B19, ηπατοτρόποι ιοί, ιός ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας, μυκόπλασμα πνευμονίας, βρουκέλλα, μυκοβακτηρίδιο φυματίωσης, ωχρά σπειροχαίτη και, πιο πρόσφατα, ο κορονοϊός SARS-CoV-2 (Barcellini, Zaninoni, et al. 2020). Επιπλέον, περιγραφές περιστατικών στη βιβλιογραφία αναφέρουν πιθανή συσχέτιση των εμβολιασμών με την εμφάνιση AAA, αν και επιδημιολογικές μελέτες δεν το επιβεβαιώνουν (Akker, et al., 2020). Η συσχέτιση της AAA με νεοπλασίες, όπως το λέμφωμα non-Hodgkin, φαίνεται να αφορά κατά κύριο λόγο την ενήλικη ζωή, ενώ και η αλλογενής μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (Jäger, et al., 2020). Τέλος, η φαρμακο-επαγόμενη αιμόλυση ανήκει, πλέον, στις δευτεροπαθείς μορφές AAA (Michalak, et al., 2020).

Η AAA κατηγοριοποιείται σε θερμού και ψυχρού τύπου, βάσει της ιδανικής θερμοκρασίας πρόσδεσης και δράσης του αυτο-αντισώματος. Το 90% των παιδιατρικών περιπτώσεων AAA είναι θερμού τύπου, ενώ το εναπομείναν ποσοστό περιλαμβάνει την παροξυστική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία, την AAA ψυχρού και μικτού τύπου (Kim & Despotovic, 2019). Η παροξυστική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία (paroxysmal cold hemoglobinuria - PCH) αποτελεί τη δεύτερη σε συχνότητα συχνότερη μορφή AAA στην παιδική ηλικία, παρατηρούμενη, συνήθως, μετά από ιογενή λοίμωξη (Hill, et al., 2017). Η AAA ψυχρού τύπου, συχνά παρατηρούμενη σε προχωρημένες ηλικίες, είναι πολύ σπάνια σε παιδιά, συχνά συνδεδεμένη με μυκοπλασματική λοίμωξη (Michalak, et al., 2020). Πρόσφατες πολυκεντρικές μελέτες ασθενών με AAA ψυχρού τύπου έδειξαν ότι η συχνότητα της νόσου διαφέρει ανάλογα με τις κλιματολογικές συνθήκες της περιοχής και είναι τετραπλάσια στα ψυχρά συγκριτικά με τα θερμότερα κλίματα (2 έναντι 0,5 περιπτώσεων/100000) (Barcellini, et al., 2020).

Η κλινική πορεία της νόσου ποικίλλει από ήπια μέχρι σοβαρή ή, ακόμη, και απειλητική για τη ζωή κατάσταση. Η σοβαρότητα της αναιμίας εξαρτάται από τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του αυτο-αντισώματος, την δραστηριότητα του

φαγοκυτταρικού συστήματος και την ανταπόκριση του μυελού των οστών (Murakhovskaya, 2020). Μπορεί να είναι χρόνια ή υποτροπιάζουσα, και, σε σπάνιες περιπτώσεις, επεισοδιακή (Michalak, et al., 2020). Περίπου το ένα τρίτο των ασθενών θα εμφανίσουν ύφεση μετά την αρχική θεραπεία, αλλά οι υπόλοιποι θα έχουν χρόνια υποτροπιάζουσα πορεία (Brodsky, 2019). Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν θεραπείες on-label για την AAA, ενώ, λόγω της απουσίας τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών, οι συστάσεις ως προς τη διάγνωση και θεραπεία βασίζονται σε προσωπικές απόψεις ειδικών και μεμονωμένες εθνικές κατευθυντήριες οδηγίες (Jäger, et al., 2020).

1.1 ΤΥΠΟΙ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗΣ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ

AAA θερμού τύπου (*warm autoimmune hemolytic anemia- wAIHA*)

Η AAA θερμού τύπου (wAIHA) αποτελεί το 75% των περιπτώσεων AAA και το συχνότερο τύπο AAA στον παιδιατρικό πληθυσμό (Bass, et al., 2014). Παρουσιάζει ένα ευρύ φάσμα χαρακτηριστικών όσον αφορά στην ηλικία διάγνωσης, τη σοβαρότητα των κλινικών εκδηλώσεων και την παρουσία σχετιζόμενων υποκείμενων νοσημάτων (Jäger, et al., 2020). Περίπου στο 50% των περιπτώσεων η νόσος είναι δευτεροπαθής, σχετιζόμενη με ποικίλες καταστάσεις, όπως λοιμώξεις, ανοσοανεπάρκειες, αυτοάνοσα και λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα, φάρμακα και μεταμόσχευση. (Πίνακας 1) Ωστόσο, η κατηγορία της πρωτοπαθούς ή ιδιοπαθούς wAIHA σταδιακά συρρικνώνεται, καθώς συνεχώς αναγνωρίζονται μονο- και πολυγονιδιακές διαταραχές του ανοσιακού συστήματος, οι οποίες παρουσιάζουν ως πρώτη εκδήλωση κάποια άνοση κυτταροπενία (Kalfa, 2016).

Η wAIHA προκύπτει, τις περισσότερες φορές, μετά από σύνδεση πολυκλωνικών IgG αυτο-αντισωμάτων στις πρωτεΐνες του συστήματος Rhesus της επιφάνειας των ερυθροκυττάρων. Τα αυτο-αντισώματα δρουν ιδανικά σε θερμοκρασία σώματος, δηλαδή, στους 37°C (Kim & Despotovic, 2019). Μετά τη σύνδεση, το σύμπλοκο αυτο-αντίσωμα – ερυθροκύτταρο απομακρύνεται εξωαγγειακά στο σπλήνα (Bass, et al., 2014). Ενδαγγειακή λύση των ερυθροκυττάρων μέσω ενεργοποίησης του συμπληρώματος δεν παρατηρείται στη wAIHA, αν και σε υψηλές συγκεντρώσεις τα IgG αυτο-αντισώματα δύναται να ενεργοποιήσουν παράγοντες του συμπληρώματος. Σε αυτές τις περιπτώσεις, τα C3b οψωνοποιημένα ερυθροκύτταρα απομακρύνονται από τα μακροφάγα του ήπατος (Kalfa, 2016).

Η AAA θεωρείται θερμού τύπου όταν η άμεση δοκιμασία αντισφαιρινικού ορού (direct antiglobulin test- DAT) αναδεικνύεται θετική για IgG ή/και C3, ενώ έχει αποκλεισθεί η παρουσία κλινικά σημαντικής ψυχροσυγκολλητίνης (Hill, et al., 2017). Σε σπάνιες περιπτώσεις, η wAIHA μπορεί να οφείλεται σε IgM αυτο-αντίσωμα, με θερμική δραστηριότητα κοντά στη θερμοκρασία σώματος (θερμό IgM). Η αναγνώριση τέτοιων αυτο-αντισωμάτων είναι δύσκολη, καθώς η DAT μπορεί να είναι θετική για C3, ή σπανιότερα για IgG και C3, με τελική λανθασμένη διάγνωση AAA ψυχρού ή μικτού τύπου. Θετική DAT για C3 σε wAIHA πρέπει να θέτει την κλινική υποψία συμμετοχής αυτο-αντισώματος IgM (Ladogana, et al., 2017). Όλες οι παιδιατρικές περιπτώσεις wAIHA με θερμό IgM που περιγράφονται στη βιβλιογραφία σχετίζονται με παρουσία υποκείμενων νοσημάτων (συγγενή ανοσοανεπάρκεια, μεταμόσχευση ήπατος) και είναι ανθεκτικές στη χορηγούμενη θεραπεία (Takahashi, et al., 2016) (Branstetter, et al., 2015).

Από την άλλη, αυτο-αντίσωμα IgA ανευρίσκεται στο 14% των wAIHA, χωρίς, ωστόσο, να είναι παθογόνο και με συνύπαρξη, συνήθως, IgG αυτό-αντισώματος. Οι περιπτώσεις στις οποίες το υπεύθυνο για την αιμόλυση αυτο-αντίσωμα είναι τύπου IgA είναι εξαιρετικά σπάνιες, αντιπροσωπεύοντας σύμφωνα με μια μεγάλη ανάλυση 5235 ασθενών μόλις το 0,11% των περιπτώσεων AAA (Akker, et al., 2020). Οι ελάχιστοι παιδιατρικοί ασθενείς με wAIHA και παρουσία IgA αυτο-αντισώματος αναφέρονται να παρουσιάζουν ταχεία ανταπόκριση στη θεραπεία πρώτης γραμμής (Branstetter, et al., 2015).

Σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, η wAIHA είναι μια δυνητικά θανατηφόρα νόσος, είτε λόγω της οξείας εκδήλωσης βαρύτατης αναιμίας είτε λόγω αντίστασης στη χορηγούμενη θεραπεία, παρουσίας συχνών υποτροπών ή /και ανάγκης χορήγησης θεραπευτικών σχημάτων με σοβαρές παρενέργειες. Η θνητότητα υπολογίζεται σε 11% στους ενήλικες ασθενείς και σε 4% στον παιδιατρικό πληθυσμό (Kalfa, 2016), ενώ η θνητότητα σε AAA από θερμό IgM αυτο-αντίσωμα αγγίζει το 20% (Barcellini & Fatizzo, 2015). Η τιμή της αιμοσφαιρίνης κατά τη διάγνωση έχει προγνωστική αξία όσον αφορά στον κίνδυνο υποτροπής, με τις χαμηλότερες τιμές να σχετίζονται με τριπλάσιο κίνδυνο υποτροπής και ανάγκη ενίσχυσης της θεραπείας με επόμενης γραμμής φάρμακα (Kalfa, 2016).

Πίνακας 1. Αιτίες δευτεροπαθούς AAA στην παιδική ηλικία.

<p>1. Λοιμώξεις</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ Ιός Epstein-Barr ○ Κυτταρομεγαλοϊός ○ Ιός Parvo B19 ○ Ιός ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας ○ Ιός ηπατίτιδας C ○ Μυκόπλασμα πνευμονίας ○ Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού
<p>2. Ανοσοανεπάρκειες και Λεμφοϋπερπλαστικά σύνδρομα</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ Κοινή ποικίλη ανοσοανεπάρκεια ○ Βαριά συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια ○ Σύνδρομο Di George ○ Ανεπάρκεια IgA ○ Αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο ○ Ανεπάρκεια lipopolysaccharide-responsive and beige-like anchor (LRBA) ○ Ανεπάρκεια cytotoxic T-lymphocyte Antigen-4 (CTLA4) ○ Μεταλλάξεις phosphoinositide 3-kinase delta (PI3KD) ○ Νόσος Castleman
<p>3. Αυτοάνοσα και ρευματικά νοσήματα</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ Συστηματικός ερυθρηματώδης λύκος ○ Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο ○ Ρευματοειδής αρθρίτιδα ○ Γιγαντοκυτταρική ηπατίτιδα
<p>4. Νεοπλασίες</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ Λέμφωμα ○ Λευχαιμία ○ Μυελοδυσπλασία
<p>5. Άλλα</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ Φάρμακα ○ Εμβόλια ○ Μεταμόσχευση

Σύνδρομο Evans

Η ειδική συνθήκη, κατά την οποία η wAIHA συνοδεύει, ταυτόχρονα ή διαδοχικά, κάποια άλλη άνοση κυτταροπενία, με συνηθέστερη τη θρομβοπενία, ονομάζεται σύνδρομο Evans (Evans syndrome - ES) (Rotz, et al., 2018). Πρόκειται για σπάνια άνοση διαταραχή, που αφορά στην άνοση καταστροφή τουλάχιστον δύο κυτταρικών σειρών του αίματος, με χρόνια, υποτροπιάζουσα πορεία και άγνωστη μακροπρόθεσμη πρόγνωση (Aladjidi, et al., 2015). Η εμπλοκή των ερυθροκυττάρων στο σύνδρομο αποδεικνύεται με παρουσία θετικής DAT, χωρίς να είναι απαραίτητη η παρουσία σημείων αιμόλυσης (Miano, 2016).

Σε μελέτη κοόρτης το ES φάνηκε να είναι πολύ συχνότερο στην παιδική ηλικία σε σχέση με την ενήλικη ζωή (4,1% σε σύνολο 179 παιδιών έναντι 0,78% σε σύνολο 766 ενηλικών) (Jaime-Perez, et al., 2018). Το ποσοστό δε των παιδιατρικών ασθενών με AAA που εμφανίζει ES αναφέρεται να φτάνει 37%, ενώ η θνητότητα του συνδρόμου εμφανίζεται αυξημένη σε σχέση με αυτή της μεμονωμένης AAA – αγγίζοντας το 10% (Miano, 2016). Οι αναφερόμενες αιτίες θανάτου σχετίζονται τόσο με την ίδια τη νόσο όσο και με τη θεραπεία αυτής (Mannering, et al., 2020).

Αρχικά, η νόσος θεωρήθηκε ιδιοπαθής, ωστόσο, η αθροιζόμενη εμπειρία και η πρόοδος των μοριακών τεχνικών συνέβαλαν στην αναγνώριση σχετιζόμενων υποκείμενων νοσημάτων (Kim & Despotovic, 2019). Η αιματολογική εκδήλωση μπορεί να προηγείται των λοιπών εκδηλώσεων του υποκείμενου νοσήματος (Rivalta, et al., 2019), επομένως, η διάγνωση του ES σε παιδιατρικούς ασθενείς πρέπει να συνοδεύεται από διερεύνηση παρουσίας κοινής ποικίλης ανοσοανεπάρκειας (CVID), αυτοάνοσου λεμφοϋπερπλαστικού συνδρόμου (ALPS) και άλλων συστηματικών αυτοάνοσων νοσημάτων, όπως ο συστηματικός ερυθρημστώδης λύκος (Jäger, et al., 2020). Τέλος, περιπτώσεις ES έχουν περιγραφεί μετά από μεταμόσχευση τόσο αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων όσο και συμπαγών οργάνων (Miano, 2016).

Καθώς το ES αποτελεί πιθανή πρώιμη και, ενδεχομένως, επικίνδυνη και ανθεκτική στη θεραπεία εκδήλωση ενός υποκείμενου συγγενούς ελλείμματος της ανοσίας, η διάγνωση του ανοσολογικού υποστρώματος είναι υψίστης σημασίας για την επιλογή ορθής θεραπευτικής στρατηγικής. Είτε η αυτοανόσια οφείλεται σε βλάβη των Β-κυττάρων, όπως συμβαίνει στην CVID, είτε σε διαταραχή της ωρίμανσης ή διαφοροποίησης των Τ-κυττάρων, όπως στις συνδυασμένες ανοσοανεπάρκειες, το αποτέλεσμα είναι η αποδιοργάνωση των ρυθμιστικών μηχανισμών, η αυτο-

αντιδραστικότητα και η παραγωγή ανιχνεύσιμων αυτο-αντισωμάτων έναντι κυττάρων του αίματος. Επιπλέον, στους ασθενείς ενδέχεται να συνυπάρχουν επιπρόσθετες εκδηλώσεις ανοσιακής δυσλειτουργίας, οι οποίες περιλαμβάνουν αιμοφαγοκυττάρωση, λεμφοϋπερπλασία, μυελική ανεπάρκεια, χρόνια αυτοφλεγμονή και υπερδραστηριότητα του συμπληρώματος.

AAA ψυχρού τύπου

Η AAA ψυχρού τύπου διακρίνεται στη νόσο εκ ψυχροσυγκολλητινών (Cold agglutinin disease - CAD) και στο σύνδρομο των ψυχροσυγκολλητινών (Cold agglutinin syndrome–CAS). Σύμφωνα με τον προσαρμοσμένο πλέον ορισμό, η CAD αφορά λεμφοϋπερπλαστικά σύνδρομα χαμηλού κινδύνου και αταξινόμητη λεμφοϋπερπλασία Β-κυττάρων στο μυελό των οστών, ενώ ως CAS ορίζεται η παρουσία ψυχροσυγκολλητινών στη διαδρομή νοσημάτων, όπως συστηματικός ερυθματώδης λύκος, λοιμώξεις (EBV, *Mycoplasma pneumoniae*) ή λέμφωμα (Michalak, et al., 2020). Η CAD αφορά συνήθως ασθενείς μέσης ή μεγαλύτερης ηλικίας, ενώ το CAS εμφανίζεται, κατά κύριο λόγο, σε παιδιατρικούς ασθενείς μετά από μυκοπλασματικές λοιμώξεις, με συνοδό δυνατότητα αυτοπεριορισμού (Hill, et al., 2017).

Η AAA ψυχρού τύπου χαρακτηρίζεται από παρουσία ψυχροσυγκολλητινών (cold agglutinin–CA). Πρόκειται για αυτο-αντισώματα τάξης IgM, τα οποία συνδέονται με τα αντιγόνα I/i της επιφάνειας των ερυθροκυττάρων σε θερμοκρασία μικρότερη των 37°C, προκαλούν συγκόλληση αυτών και οδηγούν τελικά σε εξωαγγειακή, αλλά, και ενδοαγγειακή αιμόλυση, μέσω ενεργοποίησης του καταρράκτη του συμπληρώματος (Yarali, et al., 2018) (Hill & Hill, 2018).

Σε σταθερή κατάσταση, οι ασθενείς εμφανίζουν χαμηλά επίπεδα παραγόντων συμπληρώματος στον ορό, τα οποία αυξάνονται σε αντιδράσεις οξείας φάσης με δυνατότητα πρόκλησης αιμόλυσης. Η πλειονότητα των ασθενών, λοιπόν, εμφανίζει ήπια ή μέτρια αναιμία, με έξαρση των συμπτωμάτων σε έκθεση σε ψύχος, λοίμωξη, εμβολιασμό, χειρουργικό στρες ή τραύμα (Jäger, et al., 2020). Η εκ ψύχους επαγόμενη ενδοαγγειακή συγκόλληση των ερυθροκυττάρων προκαλεί συμπτώματα από τη μικροκυκλοφορία, όπως ακροκυάνωση και σύνδρομο Raynaud σε ποσοστό 50-90% των ασθενών (Murakhovskaya, 2020). Αιμοσφαιρινουρία παρατηρείται σε 15% των ασθενών σε σοβαρή έξαρση της νόσου και παρουσία ενδοαγγειακής αιμόλυσης (Berentsen, et al., 2015).

Η διάγνωση της AAA ψυχρού τύπου βασίζεται στην παρουσία υψηλού τίτλου ψυχροσυγκολλητινών (CA>64) σε θερμοκρασία 4°C in vitro και θετικής DAT με παρουσία μόνο C3d. Σε έλεγχο του θερμικού εύρους των CA, η δραστηριότητα τους παραμένει έως τους 30°C (Bass, et al., 2014). Σε 20% των περιπτώσεων η DAT μπορεί να αναδειχθεί ασθενώς θετική για IgG, επιπλέον του C3d, ενώ μόνο το 7-31% των ασθενών με AAA και θετική DAT για C3d διαγιγνώσκεται τελικά με AAA ψυχρού τύπου (Hill, et al., 2017).

Όσον αφορά στη CAD, σε περισσότερο από 90% των ασθενών ανευρίσκεται μονοκλωνική IgMκ σε ηλεκτροφόρηση - αγαρόζης ή τριχοειδική - και ανοσοκαθήλωση πρωτεϊνών (Jäger, et al., 2020). Επιπλέον, η νόσος εμφανίζει διακριτά ιστολογικά και ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά κατά την εξέταση του μυελού των οστών, καθώς και κυτταρογενετικές ανωμαλίες και γονιδιακές διαταραχές των αλύσεων των ανοσοσφαιρινών (Murakhovskaya, 2020).

Αντίθετα, το CAS, το οποίο συνήθως συνοδεύει λοιμώξεις, χαρακτηρίζεται από παροδικά πολυκλωνικά IgM αυτο-αντισώματα (Murakhovskaya 2020). Η συχνότερη αιτία CAS είναι η πνευμονία από *Mycoplasma pneumoniae*, αποτελώντας το 8% των AAA. Οι ασθενείς με μυκοπλασματική πνευμονία παράγουν CA, χωρίς συνήθως να εμφανίζουν αιμολυτική αναιμία. Περιστασιακά, ωστόσο, υψηλοί τίτλοι CA, με μεγάλο θερμικό εύρος δράσης, μπορούν να οδηγήσουν σε αιμόλυση. Οι CA είναι, σε αυτή την περίπτωση, πολυκλωνικές, και η αναιμία εκδηλώνεται δύο με τρεις εβδομάδες μετά την έναρξη της εμπύρετης λοίμωξης. Η πρόγνωση είναι καλή, με αυτοπεριορισμό του επεισοδίου εντός 4-6 εβδομάδων. Σε πολύ μικρότερη συχνότητα, η λοιμώδης μονοπυρήνωση από Epstein – Barr μπορεί, επίσης, να επιπλακεί με CAS, όπως και, σπανιότερα, λοιμώξεις από κυτταρομεγαλοϊό, αδενοϊό, ιό γρίπης A, ανεμευλογιά, ερυθρά, λεγεωνέλλα, λιστέρια, και χλαμύδια (Berentsen, et al., 2015).

AAA μικτού τύπου

Η AAA μικτού τύπου αποτελεί το 8-10% όλων των AAA. Προκύπτει από την ταυτόχρονη παρουσία θερμού IgG και ψυχρού IgM αυτο-αντισώματος, με υψηλό θερμικό εύρος δράσης - τουλάχιστον έως 30°C-, και συνήθως χαμηλό τίτλο CA στους 4°C (<1/64) (Barcellini, et al., 2014). Οι ασθενείς παρουσιάζουν κλινικά χαρακτηριστικά τόσο θερμού όσο και ψυχρού τύπου AAA, χωρίς ωστόσο να εκδηλώνουν ακροκυάνωση που παρατηρείται σε CAD (Bass, et al., 2014) (Hill, et al.,

2017). Η κλινική εικόνα είναι σοβαρότερη, με σημαντικά χαμηλότερη τιμή αιμοσφαιρίνης κατά τη διάγνωση. Εργαστηριακά, η DAT είναι θετική για IgG και C3.

Στον παιδιατρικό πληθυσμό η AAA μικτού τύπου είναι εξαιρετικά σπάνια και πρέπει να διαφοροδιαγνώσκεται από τη wAIHA με παρουσία κλινικά μη σημαντικών ψυχροσυγκολλητινών, αλλά και από την AAA ψυχρού τύπου, καθώς η θεραπευτική αντιμετώπιση διαφέρει. Σε απόφαση μετάγγισης, ενδέχεται να παρουσιαστούν δυσκολίες στις δοκιμασίες διασταύρωσης αίματος. Τέλος, η AAA μικτού τύπου απαιτεί συχνότερα θεραπευτική αντιμετώπιση με φάρμακα πέραν της πρώτης γραμμής (Jäger, et al., 2020).

Παροξυντική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία

Η παροξυντική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία (paroxysmal cold hemoglobinuria-PCH) αποτελεί σπάνια μορφή AAA, η οποία πρωτοπεριγράφηκε από τους Donath και Landsteiner (Jäger, et al., 2020). Η συχνότητα της στους παιδιατρικούς ασθενείς με AAA υπολογίζεται σε 0-5%, με κάποιους συγγραφείς να υποστηρίζουν υψηλότερα ποσοστά που αγγίζουν το 32% (Vagace, et al., 2014). Χαρακτηρίζεται από διφασικά πολυκλωνικά αυτο-αντισώματα τάξης IgG, που στρέφονται έναντι των P αντιγόνων των ερυθροκυττάρων (Kalfa, 2016) (Prince, et al., 2017). Σε ψυχρές θερμοκρασίες, τα IgG αντισώματα προσδένονται στα ερυθροκύτταρα και συνδέονται με παράγοντες του συμπληρώματος. Σε αύξηση της θερμοκρασίας στους 37°C, τα αυτο-αντισώματα αποκολλώνται από τα ερυθροκύτταρα, ενώ οι παράγοντες συμπληρώματος ενεργοποιούνται, προκαλώντας αιμόλυση (Jäger, et al., 2020).

Η νόσος περιγράφηκε αρχικά σε ενήλικες πάσχοντες από σύφιλη (Bass, et al., 2014). Στις μέρες μας, η PCH αφορά κυρίως παιδιά, με πρόσφατο ιστορικό ιογενούς λοίμωξης. Οι λοιμογόνοι παράγοντες που συνδέονται με τη νόσο περιλαμβάνουν ιό ανεμευλογιάς, ιλαράς, ερυθράς, αδενοϊό, κυτταρομεγαλοϊό, Epstein-Barr, αιμόφιλο ινφλουέντζας και κολοβακτηρίδιο (Hill, et al., 2017).

Η διαγνωστική προσέγγιση περιλαμβάνει τη DAT, η οποία αναδεικνύεται θετική μόνο για C3, και τον αποκλεισμό άλλου τύπου AAA, ενώ η οριστική διάγνωση βασίζεται ακόμα στην in vitro διφασική δοκιμασία Donath-Landsteiner (DL). Ανάλογα με τη μέθοδο που ακολουθείται, η δοκιμασία μπορεί να είναι χρονοβόρα, απαιτητική, ακριβή και επιρρεπής σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Για τους παραπάνω λόγους, συστήνεται η δοκιμασία να γίνεται σε εργαστήρια αναφοράς (Jäger, et al., 2020). Επιπρόσθετα, το διφασικό αυτο-αντίσωμα είναι παροδικό και ανιχνεύσιμο μόνο

κατά την φάση της οξείας αιμόλυσης, γεγονός που οδηγεί στην υπόθεση ότι η συχνότητα της νόσου είναι μεγαλύτερη από την αναφερόμενη (Vaglio, et al., 2007). Η δοκιμασία πρέπει να διενεργείται σε ασθενείς με θετική DAT για IgG και C3 σύντομα μετά την εκδήλωση των συμπτωμάτων, εφόσον η AAA ψυχρού τύπου έχει αποκλεισθεί, και εφόσον ο ασθενής είτε είναι <18 ετών, είτε εμφανίζει αιμοσφαιρινουρία ή συμπτώματα εκ ψύχους. Επιπλέον, επειδή η DAT ενδέχεται να αποβεί αρνητική σε ορισμένες περιπτώσεις PCH, η δοκιμασία Donath-Landsteiner οφείλει να διενεργείται σε κάθε παιδιατρικό ασθενή με αιμόλυση και αιμοσφαιρινουρία, ακόμα και σε αρνητική DAT (Hill, et al., 2017).

Τυπικά, η PCH στους παιδιατρικούς ασθενείς είναι αυτοπεριοριζόμενη, παρουσιάζοντας αυτόματη υποστροφή μετά από λίγες ημέρες ή εβδομάδες, με εφαρμογή μόνον υποστηρικτικής θεραπείας και με αποφυγή ψύχους (Jäger, et al., 2020). Υποτροπιάζουσα ή χρόνια PCH είναι εξαιρετικά σπάνια, ενώ τα αναφερόμενα στη βιβλιογραφία παιδιατρικά περιστατικά παρουσιάζουν, στην πλειοψηφία τους, αυτο-αντισώματα διαφορετικά της τυπικής αντι-P ειδικότητας (Prince, et al., 2017). (Πίνακας 2)

Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά των διαφορετικών τύπων AAA. PCH: Paroxysmal cold haemoglobinuria, DAT: Direct antiglobulin test

Τύποι AAA	DAT	Ανοσοσφαιρίνη	Θερμικό εύρος (°C)	Ικανότητα δέσμευσης συμπλήρωματος	Αντιγόνο	Αιμόλυση
Θερμού	IgG±C3d	IgG	34-37	-/+	Anti-Rh	Εξωαγγειακή
Ψυχρού	C3d	IgM	4-27	+++	Anti-I	Εξω-/ ενδοαγγειακή
PCH	C3d	IgG (διφασικά)	4-27 (σύνδεση) 34-37 (λύση)	+++	Anti-P	Ενδοαγγειακή
Μικτού	IgGή IgG+C3d ή C3d	IgG/IgM	IgG 34-37 IgM 4-27	++	Anti-Rh Anti-I	Εξω-/ ενδοαγγειακή

Φαρμακο-επαγόμενη AAA (*drug-induced AIHA- diAIHA*)

Η diAIHA είναι σπάνια και ο βαθμός της προκαλούμενης αιμόλυσης ποικίλλει (Bass, et al., 2014). Η ετήσια επίπτωση υπολογίζεται σε 0,1 ανά 10^5 πληθυσμό και αποτελεί περίπου το 10% των περιστατικών AAA (Hill, et al., 2017). Παλαιότερα, η συνηθέστερη αιτία diAIHA θεωρούνταν η φαρμακευτική ουσία μεθυλ-ντόπα και ακολουθούσε σε συχνότητα η πενικιλίνη (Arndt & Garraty, 2005). Στις μέρες μας, ο κατάλογος των φαρμάκων που ευθύνονται για την εμφάνιση της απεριθμεί περίπου 150 ουσίες (Bass, et al., 2014). Συχνότερα ενοχοποιούνται οι κεφαλοσπορίνες δεύτερης και τρίτης γενεάς, η ριφαμπικίνη, η δικλοφενάκη και η φλουδαραβίνη (Hill, et al., 2017). Όσον αφορά στον παιδιατρικό πληθυσμό, οι κεφαλοσπορίνες αποτελούν τον κυριότερο εκλυτικό παράγοντα diAIHA και ευθύνονται για το 70% των diAIHA σε αυτή την ηλικιακή ομάδα (Kim & Despotovic, 2019). Σημειώνεται, επίσης, ότι οι ασθενείς μπορεί να έχουν λάβει πολλαπλές δόσεις του υπεύθυνου αντιβιοτικού στο παρελθόν χωρίς συμβάματα (Arndt & Garraty, 2005).

Τα φάρμακα – απτίνες συνδέονται χαλαρά ή σταθερά με την ερυθροκυτταρική μεμβράνη, και τα παραγόμενα αντισώματα στρέφονται έναντι είτε του φαρμάκου (προκαλώντας *in vitro* τυπικές αντιδράσεις φαρμακοπροσρόφησης - τύπος πενικιλίνης), είτε συστατικών της μεμβράνης (προκαλώντας *in vitro* τυπικές αντιδράσεις αυτο-αντισωμάτων), είτε μέρους του φαρμάκου και μέρους της μεμβράνης (προκαλώντας *in vitro* τυπικές αντιδράσεις ανοσοσυμπλέγματος) (Arndt & Garraty, 2005).

Η diAIHA περιλαμβάνει δύο υποκατηγορίες ανάλογα με την ανάγκη ή όχι παρουσίας του φαρμάκου για την εκδήλωση της αιμόλυσης : τη φαρμακο-εξαρτώμενη και τη φαρμακο-ανεξάρτητη diAIHA. Η φαρμακο-εξαρτώμενη diAIHA χωρίζεται, με τη σειρά της, σε δύο επιμέρους τύπους : α) τον τύπο της απτίνης, με μη ομοιοπολική σύνδεση του φαρμάκου με το ερυθροκύτταρο, το οποίο στοχοποιείται από το αυτοαντίσωμα και β) τον τύπο των ανοσοσυμπλεγμάτων φαρμάκου – αυτοαντισώματος, στον οποίο ακολουθεί αιμόλυση με ενεργοποίηση του συμπληρώματος (Bass, et al., 2014).

Η φαρμακο-εξαρτώμενη diAIHA είναι τη συχνότερη μορφή, ενώ τα αντιβιοτικά κεφοτετάνη και πενικιλίνη αποτελούν τους καλύτερα μελετημένους μεσολαβητές της. Η σύνδεση του φαρμακο-εξαρτώμενου αυτο-αντισώματος στο ερυθροκύτταρο οδηγεί σε φαγοκυττάρωση ανάλογης αυτής που παρατηρείται σε wAIHA, με τη διαφορά ότι στη wAIHA η σύνδεση του αυτο-αντισώματος γίνεται απευθείας στο ερυθροκύτταρο,

ενώ, αντίθετα, στη diAIHA η σύνδεση λαμβάνει χώρα στο συνδεδεμένο με το φάρμακο ερυθροκύτταρο. Η αιμόλυση παρατηρείται συνήθως μία με δύο εβδομάδες μετά την έναρξη του φαρμάκου, ενώ η διακοπή του υπεύθυνου φαρμάκου είναι, συχνά, η μοναδική απαιτούμενη παρέμβαση (Bass, et al., 2014). Δεν αποκλείεται, ωστόσο, η εκδήλωση σοβαρής ενδοαγγειακής αιμόλυσης εντός λίγων ωρών από την έκθεση στην υπεύθυνη φαρμακευτική ουσία ή και υποξείας εξωαγγειακής αιμόλυσης μήνες μετά την έκθεση. Η θνητότητα κυμαίνεται μεταξύ 6 και 15% και αναφέρεται συχνότερα μετά τη χορήγηση κεφαλοσπορινών ή δικλοφενάκης (Hill, et al., 2017).

Στην περίπτωση της φαρμακο-ανεξάρτητης diAIHA ο μηχανισμός διέγερσης της αυτοανοσίας δεν έχει αποσαφηνισθεί. Η παρουσία φαρμακευτικής ουσίας δεν απαιτείται για την ανίχνευση των αυτο-αντισωμάτων και ο τύπος αυτός δε διακρίνεται ορολογικά από τη wAIHA (Arndt & Garraty, 2005) (Bass, et al., 2014).

Η DAT είναι σχεδόν πάντα θετική για IgG ή/και C3. Περαιτέρω ορολογικός έλεγχος δεν απαιτείται εάν είναι γνωστό το ιστορικό λήψης φαρμάκου σχετιζόμενου με diAIHA. Σε μη τυπικές, ωστόσο, περιπτώσεις συστήνεται η διενέργεια δοκιμασιών προκειμένου για την ανεύρεση ειδικών για τη φαρμακευτική ουσία αντισωμάτων (Kim & Despotovic, 2019).

1.2 ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ

Αιμόλυση

Τα αντι-ερυθροκυτταρικά αυτοαντισώματα παράγονται από αυτο-αντιδραστικά Β-λεμφοκύτταρα, τόσο των ιστών όσο και της κυκλοφορίας, με τη συνδρομή βοηθητικών Τ-λεμφοκυττάρων (Barcellini, 2015). Η καταστροφή των επικαλυμμένων με αυτο-αντισώματα ερυθροκυττάρων μπορεί να συμβεί με απευθείας λύση τους, μέσω διαδοχικής ενεργοποίησης των τελικών παραγόντων του καταρράκτη του συμπληρώματος (membrane attack complex - MAC), και μέσω αντισωματο-εξαρτώμενης κυτταροτοξικότητας (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity-ADCC). Η δράση των αυτο-αντισωμάτων εξαρτάται από την τάξη τους (συνήθως IgG και IgM), την υποτάξη τους, το θερμικό εύρος (θερμού και ψυχρού τύπου), καθώς και τη συγγένεια και την αποτελεσματικότητα όσον αφορά στην ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Κυτταροκίνες και κυτταροτοξικοί μηχανισμοί (CD8+ Τ-λεμφοκύτταρα και κύτταρα φυσικοί φονείς – Natural Killer) εμπλέκονται επίσης στην ερυθροκυτταρική καταστροφή (Barcellini, 2015).

Επιπρόσθετα, μεταβολές στη δομή της επιφάνειας των ερυθροκυττάρων υπό την επίδραση μηχανικών ερεθισμάτων ή οξειδωτικού στρες, πιθανόν να προάγουν την αιμόλυση. Πρόσφατα ευρήματα από μελέτες σε ζωικά μοντέλα υποδεικνύουν το οξειδωτικό στρες ως παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση AAA και τα δικτυοερυθροκύτταρα ως στόχο των παραγόμενων αυτο-αντισωμάτων. Πιο συγκεκριμένα, οι μελέτες δείχνουν αυξημένα ποσοστά αυτο-αντισωμάτων στην επιφάνεια των δικτυοερυθροκυττάρων και παραγωγή από αυτά περισσότερων ελεύθερων ριζών οξυγόνου, γεγονός που τα κάνει ευάλωτα στην κάθαρση τους από την κυκλοφορία. Επιπλέον, φαίνεται ότι τα αντι-ερυθροκυτταρικά αυτο-αντισώματα συνδέονται κατά προτεραιότητα στα δικτυοερυθροκύτταρα και επάγουν την έκφραση φωσφατιδυλσερίνης. Τα ευρήματα αυτά, μπορούν, ίσως, να ερμηνεύσουν την παρουσία δικτυοερυθροπενίας σε ορισμένες περιπτώσεις AAA (Michalak, et al., 2020).

Στους παιδιατρικούς ασθενείς, τα υπεύθυνα για την εκδήλωση της AAA αυτο-αντισώματα είναι συνήθως θερμού τύπου, τάξης IgG, και στην πλειονότητα υποτάξης IgG₁. Στρέφονται, κυρίως, εναντίον πεπτιδίων του συστήματος Rhesus και, σπανιότερα, εναντίον της πρωτεΐνης ζώνης 3 ή της γλυκοφορίνης A της επιφάνειας των ερυθροκυττάρων (Michel, 2014). Η πρόσδεση τους στα ερυθροκύτταρα συμβαίνει σε θερμοκρασία 37°C και οδηγεί, εν μέρει, σε καταστροφή αυτών στο σπλήνα, μέσω σύνδεσης αυτών με τους Fcγ υποδοχείς των μακροφάγων και αντισωματο-εξαρτώμενης κυτταροτοξικότητας (Brodsky, 2019). Τα μονομερή IgG αυτο-αντισώματα είναι ικανά να ενεργοποιήσουν τον καταρράκτη του συμπληρώματος, με εξαίρεση τις υποτάξεις IgG₂ και IgG₄ (Barcellini, 2015). Ωστόσο, η πυκνότητα τους στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων δεν επαρκεί, συνήθως, για την ενεργοποίηση του, αν και, κατά περιπτώσεις, δύναται να λάβει χώρα σύνδεση παραγόντων του συμπληρώματος στο σύμπλεγμα ερυθροκύτταρο - αυτοαντίσωμα (Jäger, et al., 2020). Ένα ποσοστό των ερυθροκυττάρων χάνει μέρος της μεμβράνης στο σπλήνα και επιστρέφει στην κυκλοφορία με τη μορφή σφαιροκυττάρων, τα οποία είναι ορατά στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος. Τα σφαιροκύτταρα είναι λιγότερα εύκαμπτα από τα φυσιολογικά ερυθροκύτταρα, με αποτέλεσμα να παγιδούνται κατά την επόμενη διέλευση τους στα κολποειδή του σπλήνα και να καταστρέφονται (Brodsky, 2019).

Από την άλλη, στην περίπτωση AAA ψυχρού τύπου το υπεύθυνο αντίσωμα αφορά ψυχροσυγκολλητίνη, σχεδόν αποκλειστικά τάξης IgM, με ειδικότητα προς τα

αντιγόνα I/i των ερυθροκυττάρων (Michel, 2011). Οι CA παρουσιάζουν τη μέγιστη δραστηριότητα τους σε θερμοκρασία 4°C, ενώ διατηρούν τη δράση τους και σε υψηλότερες θερμοκρασίες (έως 30°C), επιδεικνύοντας μεγάλο θερμικό εύρος (Kalfa, 2016). Μέρος του πληθυσμού εμφανίζει CA στον ορό του αίματος χωρίς σημεία αιμόλυσης ή υποκείμενη νόσο. Η συχνότητα της παρουσίας μη κλινικά σημαντικών CA σε έλεγχο ρουτίνας σε κοόρτη ασθενών καταγράφηκε σε ποσοστό 0,3%, και αφορούσε σε πολυκλωνικά αυτο-αντισώματα, με χαμηλούς τίτλους (συνηθέστερα <64) και μικρό θερμικό εύρος δράσης. Αντίθετα, η παρουσία μονοκλωνικών IgM αυτο-αντισωμάτων, σε υψηλούς τίτλους, σε ορό ασθενών συνοδεύονταν συχνά από αιμόλυση, γεγονός που καθιστά τις μονοκλωνικές CA περισσότερο παθογόνες (Berentsen, et al., 2015).

Τα IgM αυτο-αντισώματα είναι πενταμερή και, λόγω της μεγάλης πυκνότητας στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων, προκαλούν συσσώρευση αυτών και ενεργοποίηση του συστήματος συμπληρώματος (Jäger, et al., 2020). Συγκεκριμένα, συνδέονται με τον παράγοντα συμπληρώματος C1q περιφερικά, σε θερμοκρασία χαμηλότερη της κεντρικής θερμοκρασίας του σώματος. Η C1 εστεράση ενεργοποιεί τους παράγοντες C2 και C4, οδηγώντας στην παραγωγή της C3 κονβερτάσης και τελικά στη διάσπαση της σε C3a και C3b (Berentsen, et al., 2015). Εν συνεχεία, καθώς το σύμπλοκο αυτοαντισωμάτων - ερυθροκύτταρο μετακινείται κεντρικότερα με την κυκλοφορία, τα αυτο-αντισώματα IgM αποκολλώνται από τα ερυθροκύτταρα, ενώ το κλάσμα C3b παραμένει στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων. Αυτός είναι ο λόγος που η DAT είναι θετική για τον παράγοντα του συμπληρώματος, ενώ στην πλειονότητα των περιπτώσεων είναι αρνητική για IgM.

Τα επικαλυμμένα με συμπλήρωμα ερυθροκύτταρα υπόκεινται σε εξωαγγειακή αιμόλυση, μέσω των C3b υποδοχέων του φαγοκυτταρικού συστήματος του ήπατος. Αν υπάρχει ισχυρή παρουσία συμπληρώματος, είναι δυνατή η ενεργοποίηση των τελικών παραγόντων του συμπληρώματος (C5-C9), με αποτέλεσμα την εδοαγγειακή αιμόλυση, μέσω ενεργοποίησης περφορινών, η οποία εκδηλώνεται με αιμοσφαιρινουρία και πολύ μεγάλη αύξηση της γαλακτικής δεϋδρογονάσης. Συγκριτικά με την εξωαγγειακή αιμόλυση, η οποία οδηγεί σε καταστροφή 0,25ml ερυθροκυττάρων ανά χιλιόγραμμο σωματικού βάρους κάθε ώρα, η ενδοαγγειακή αιμόλυση οδηγεί σε καταστροφή 200ml ερυθροκυττάρων κάθε ώρα, αποτελώντας κατάσταση εξαιρετικής κλινικής σοβαρότητας (Barcellini, et al., 2020). Ευτυχώς, η διαδικασία ενεργοποίησης των τελικών παραγόντων του συμπληρώματος

περιορίζεται από την παρουσία ρυθμιστικών πρωτεϊνών (CD55 και CD59) στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων (Murakhovskaya 2020).

Τέλος, η παροξυντική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία χαρακτηρίζεται από διφασικά αυτο-αντισώματα τάξης IgG, τα οποία ονομάζονται Donath-Landsteiner IgG αντισώματα και στρέφονται έναντι των P αντιγόνων των ερυθροκυττάρων (Kalfa, 2016). Σε ψυχρές θερμοκρασίες, τα Donath-Landsteiner IgG αντισώματα προσδένονται στα ερυθροκύτταρα και συνδέονται με παράγοντες του συμπληρώματος (C1). Τα αυτο-αντισώματα αποκολλώνται από τα ερυθροκύτταρα, και το σύστημα συμπληρώματος ενεργοποιείται σε θερμοκρασία σώματος (37°C), προκαλώντας αιμόλυση. Στις περιπτώσεις μικτού τύπου AAA συνυπάρχουν αυτο-αντισώματα IgG και κλινικά σημαντικές ψυχροσυγκολλητίνες, ενώ περιγράφονται και άτυπες μορφές AAA με παρουσία IgA ή θερμών IgM αυτο-αντισωμάτων (Murakhovskaya, 2020). Το υπεύθυνο αντιγόνο έναντι του οποίου στρέφονται τα IgA αυτο-αντισώματα δεν είναι σαφές, ενώ πιθανόν τα αυτο-αντισώματα να οδηγούν σε φαγοκυττάρωση και αντιγονο-εξαρτώμενη κυτταροτοξικότητα με συνέπεια την αιμόλυση (Akker, et al. 2020). Από την άλλη, το θερμό IgM φαίνεται να επάγει την αυτόματη συσσώρευση των ερυθροκυττάρων στον οργανισμό, προκαλώντας σοβαρή αιμόλυση και βαριά κλινική πορεία (Ladogana, et al., 2017).

Διαταραχές λειτουργίας ανοσιακού συστήματος

Ενώ η παθογένεση της αιμόλυσης στην AAA έχει αποσαφηνισθεί, οι υποκείμενοι μηχανισμοί που οδηγούν στην αποδιοργάνωση του συστήματος ανοσοανοχής αποτελούν ακόμα ένα αίνιγμα (Vagace, et al., 2014). Ένας από τους μηχανισμούς έναρξης ή επιτάχυνσης της αυτοανοσίας αποτελεί η μοριακή μίμηση μεταξύ αυτο- και αλλο-αντιγόνων. Η παρουσία κοινών αντιγονικών επιτόπων στις ερυθροκυτταρικές πρωτεΐνες και τους ερυθροκυτταρικούς υδρογονάνθρακες αποτελεί τον κύριο μηχανισμό πρόκλησης AAA μετά από ιογενείς, βακτηριακές και μυκοπλασματικές λοιμώξεις. Ως ξεχωριστός μηχανισμός περιγράφεται ακόμα, η δημιουργία νέων αντιγόνων μετά την επίδραση στον οργανισμό περιβαλλοντικών παραγόντων ή φαρμάκων, φαινόμενο που παρατηρείται στην φαρμακο-επαγώμενη AAA, στην οποία η αυτο-ανοσιακή απόκριση παραμένει μέχρι την εξάλειψη του φαρμάκου από τον οργανισμό (Barcellini, 2015). Φάρμακα επάγουν την παραγωγή αυτο-αντισωμάτων με τρεις διαφορετικούς τρόπους: τροποποίηση της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων (μεθυλντόπα), προσρόφηση σε αυτή (πενικιλίνη, κεφαλοσπορίνες)

ή σύνδεση με τη μορφή ανοσοσυμπλεγμάτων (ριφαμπικίνη, κινίνη, σουλφοναμίδες, υδροχλωροθειαζίδη, τετρακυκλίνες) (Barcellini, et al., 2020).

Επιπλέον μηχανισμοί φαίνεται, ωστόσο, να εμπλέκονται στην αποτυχία διατήρησης αυτο-ανοσοανοχής. Η - επαγόμενη από ιώσεις - πολυκλωνική λεμφοκυτταρική ενεργοποίηση, αλλά και η ανάπτυξη "απαγορευμένων" κλώνων, που παρατηρείται στα λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα, έχουν, επίσης, ενοχοποιηθεί για τη διαταραχή (Barcellini, 2015). Η υπόθεση των "απαγορευμένων κλώνων" διατυπώθηκε πριν από περισσότερο από 60 χρόνια και βασίστηκε στην διατήρηση αυτο-αντιδραστικών κλώνων λεμφοκυττάρων, οι οποίοι θα έπρεπε φυσιολογικά να εξαλειφθούν στην εμβρυική ζωή, και των οποίων η επανενεργοποίηση προωθεί την εκδήλωση αυτοανοσίας.

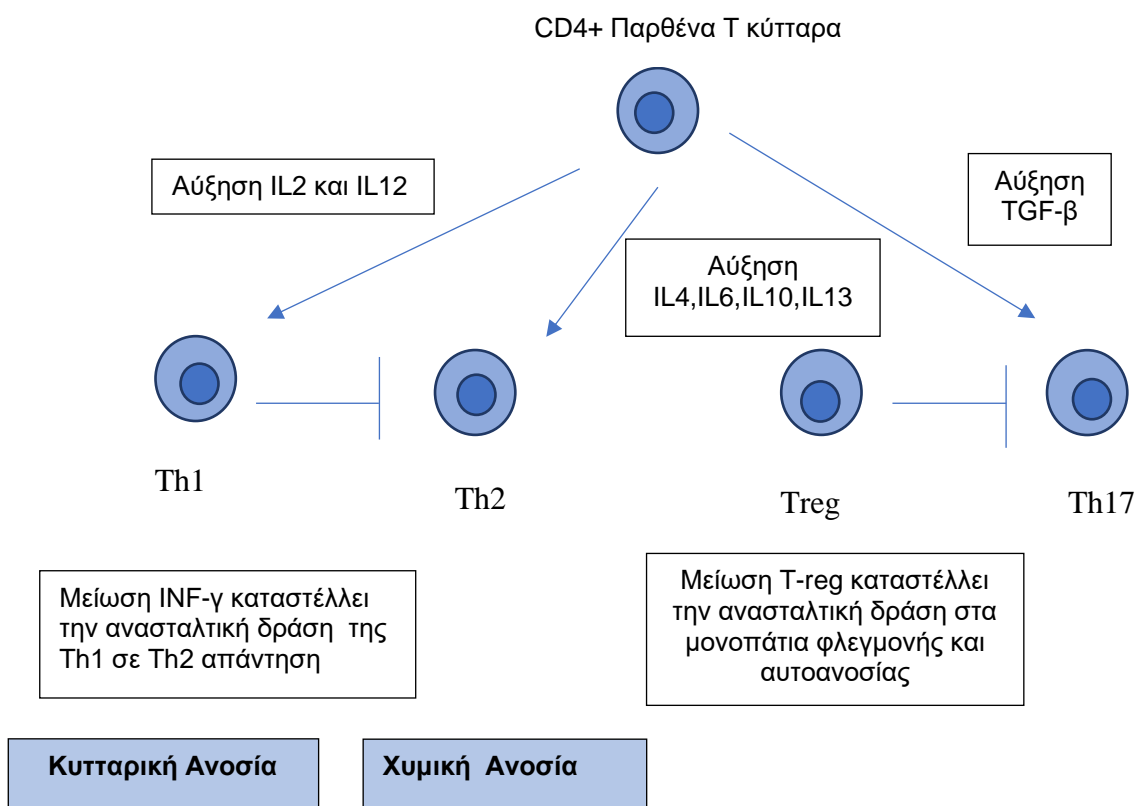
Παρόμοια με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, η εκδήλωση AAA σχετίζεται με τη διαταραχή τόσο της κεντρικής όσο και της περιφερικής ανοσοανοχής, και την παρουσία αυτο-αντιδραστικών T- και B - λεμφοκυττάρων. Οι υπότυποι των CD4+ T βοηθητικών λεμφοκυττάρων- Th1, Th2, Th17 και Tregs- ελέγχουν τη χυμική ανοσία και διαδραματίζουν πρωτεύοντα ρόλο στη διατήρηση ή απώλεια της ανοσοανοχής (Kalfa, 2016). Τα T- βοηθητικά κύτταρα τύπου 17 (Th17) και τα T- ρυθμιστικά κύτταρα (Tregs) προέρχονται από κοινό πρόδρομο κύτταρο (naïve CD4+ T κύτταρο), αλλά επιτελούν διαφορετικές λειτουργίες στην διαδικασία της ανοσιακής απάντησης. Τα Th17 συμμετέχουν στη διαδικασία της φλεγμονής και της αυτοανοσίας, εκκρίνοντας IL-17, ενώ, από την άλλη, τα Tregs αναστέλλουν τη διαδικασία αυτή επάγοντας τη διατήρηση της ανοσιακής ομοιόστασης. Μελέτη ασθενών με AAA έδειξε αύξηση του αριθμού των Th17 και των επιπέδων IL-17, καθώς και συσχέτιση αυτών με την ενεργότητα της νόσου. Αντίστοιχα, CD4+ Tregs βρέθηκαν ελαττωμένα σε ασθενείς με AAA (Barcellini, 2015). Παρόμοια, πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν τη μείωση των CD4+ και CD25+ Tregs, την κλωνική αύξηση των CD8+T-λεμφοκυττάρων, τη διαταραχή του λόγου Th17/Tregs και της λεμφοκυτταρικής απόπτωσης σε ασθενείς με AAA (Michalak, et al., 2020). Τέλος, θυλακικά T- βοηθητικά κύτταρα (Tfh), τα οποία εμπλέκονται στην έναρξη και διατήρηση της ανοσιακής απάντησης που γεννάται από μνημονικά B- κύτταρα και μακρόβια πλασματοκύτταρα, παρουσίασαν αυξημένα επίπεδα σε ασθενείς με άνοση κυτταροπενία και ενοχοποιήθηκαν για συνεισφορά στην παραγωγή αυτο-αντισωμάτων (Barcellini, et al., 2020).

Συγκεκριμένα, όσον αφορά στο σύνδρομο Evans, οι διαταραχές του ανοσιακού συστήματος που παρατηρούνται αφορούν μείωση των βοηθητικών (CD4) και αύξηση

των κυτταροτοξικών (CD8) Τ-κυττάρων. Η διαταραχή του λόγου CD4/CD8 αποτρέπει την παράγωγή IgM και IgG, όπως συμβαίνει στην COVID. Ωστόσο, έχει αποδειχθεί *in vitro* ότι, μετά την ενεργοποίηση των CD8 Τ-κυττάρων, αυξάνονται τα επίπεδα της ιντερφερόνης γ (IFNγ), με συνέπεια την διέγερση αυτοαντιδραστικών Β-κυττάρων εναντίον των ερυθροκυττάρων και των αιμοπεταλίων.

Πολλαπλά και, συχνά, αντικρουόμενα είναι τα δεδομένα που αφορούν στη διαταραχή των κυτταροκινών. Τα Τ-βοηθητικά κύτταρα τύπου 1 (Th1) εκκρίνουν IL-2, IL-12, IFNγ και TNF-β, και προάγουν την κυτταρική ανοσία. Από την άλλη, τα Τ-βοηθητικά κύτταρα τύπου 2 (Th2) εκκρίνουν IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 και IL-13 και προάγουν τη χυμική ανοσία (Kalfa, 2016). Τα επίπεδα των ιντερλευκινών IL-4, IL-6 και IL-10 ανευρίσκονται αυξημένα σε ασθενείς με AAA σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες, εύρημα συμβατό με υπεροχή τη Th2 ανοσιακής απάντησης. Από την άλλη, τα επίπεδα της ιντερφερόνης γ (IFN-γ) μετρούνται μειωμένα σε ασθενείς με AAA, με αποτέλεσμα την επακόλουθη μειωμένη αναστολή της Th2 ανοσιακής απάντησης και την επαγωγή της αυτοανοσίας. Τέλος, ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας (TGF)-β, που αποτελεί πλειοτροπική κυτταροκίνη και ευνοεί τη διαφοροποίηση των Th17, ανευρίσκεται επίσης σε αυξημένα επίπεδα στους ασθενείς με AAA (Barcellini, et al., 2020). (Σχήμα 1)

Σχήμα 1. Διαταραχές κυτταροκινών στην AAA. IL: ιντερλευκίνη, TGF-β : μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας β.



Γενετικό υπόστρωμα

Σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση της νόσου διαδραματίζει το γενετικό υπόστρωμα. Η AAA έχει συσχετισθεί με γενετικό τόπο των ανθρώπινων λευκοκυτταρικών αντιγόνων (HLA) - B8 και Bw6, μεταλλάξη του γονιδίου της μεταβλητής περιοχής των βαρέων και ελαφρών αλύσων ανοσοσφαιρινών (IGHV-immunoglobulin heavy chain variable region- και IGKV- immunoglobulin kappa chain variable region), καθώς και πολυμορφισμό γονιδίου του κυτταροτοξικού Τ λεμφοκυτταρικού αντιγόνου 4 (CTLA-4). Πιο πρόσφατα, έγιναν αναφορές σε μεταλλάξεις των γονιδίων KMT2D και CARD11 σε 69% και 31% ασθενών με CAD, αντίστοιχα.

Επιπλέον, σε μεγάλο ποσοστό (40%) παιδιατρικών ασθενών με σύνδρομο Evans περιγράφονται μεταλλάξεις γονιδίων που εμπλέκονται σε πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες, όπως TNFRSF6, CTLA4, STAT3, PIK3CD, CBL, ADAR1, LRBA, RAG1 και KRAS (Barcellini, et al., 2020). Πρόσφατες μοριακές θεωρίες που προσπαθούν να εξηγήσουν την παθοφυσιολογία της νόσου, συνδέουν το ES με

ανεπάρκεια πρωτεϊνών, όπως cytotoxic T- lymphocyte associated protein 4 - CTLA-4 και lipopolysaccharide - responsive beige-like anchor protein - LRBA (Kim & Despotovic, 2019). Η δράση των CD8 T-κυττάρων φαίνεται να επωφελείται από την ανεπάρκεια CTLA-4, που ελέγχει την παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών (Jaime-Perez, et al. 2018). Πιο συγκεκριμένα, ο CTLA-4 ή CD152 αποτελεί ανασταλτικό διαμεμβρανικό υποδοχέα της επιφάνειας των ρυθμιστικών T-κυττάρων (Tregs), ο οποίος συνδέεται με υψηλή συγγένεια με CD80/CD86 μόρια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων. Στη συνέχεια, οδηγεί στην ενδοκυττάρωση αυτών, συμβάλλοντας στη διατήρηση της ανοσιακής ομοιόστασης. Από την άλλη, η LRBA είναι ενδοκυττάρια πρωτεΐνη που συνδέεται με το ενδοπλασματικό τμήμα του CTLA-4 των Tregs και τον προστατεύει από την αποδόμηση μετά την ενδοκυττάρωση. Μεταλλάξεις των γονιδίων των CTLA-4 και LRBA έχουν συσχετισθεί με το ES (Jaime-Perez, et al., 2018)

Ένα ακόμα παράδειγμα συσχέτισης ανοσοανεπάρκειας και αυτοανοσίας αποτελεί το αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο (ALPS), που χαρακτηρίζεται από οργανομεγαλία και παρουσία μεταλλάξεων γονιδίων που εμπλέκονται στην κυτταρική απόπτωση (FAS, FASL, CASP10, CASP8, NRAS, KRAS), καθώς και το σύνδρομο Kabuki, που χαρακτηρίζεται από συγγενείς ανωμαλίες, ψυχοκινητική καθυστέρηση και παρουσία μεταλλάξεων των γονιδίων KDM6A και KMT2D, τα οποία εμπλέκονται στην ωρίμανση του ανοσιακού συστήματος και τη διατήρηση ανοσοανοχής (Barcellini, et al., 2020).

1.3 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Η κλινική εικόνα της AAA ποικίλλει από ήπια έως απειλητική για τη ζωή. Η νόσος μπορεί να λάβει οξύ, παροδικό χαρακτήρα, κυρίως στη βρεφική ηλικία, ή να είναι χρόνια και ανθεκτική στη θεραπεία, συχνότερα σε μεγαλύτερα παιδιά. Στα μικρά παιδιά συνήθως προηγείται μη ειδικό επεισόδιο εμπυρέτου (Kim & Despotovic, 2019). Δεδομένης της ικανότητας του ανθρώπινου οργανισμού να αυξάνει την παραγωγή ερυθροκυττάρων μέχρι και οκτώ φορές περισσότερο σε περίοδο ανάγκης, ορισμένοι ασθενείς εμφανίζουν αντιρροπούμενη αιμόλυση ή ήπια αναιμία χωρίς συμπτώματα (Jäger, et al., 2020). Στις περισσότερες περιπτώσεις ωστόσο, οι ασθενείς παρουσιάζουν ωχρότητα και ικτερική χροιά επιπεφυκώτων, ενώ η συχνή παρουσία ταχυκαρδίας και συστολικού καρδιακού φυσήματος σχετίζεται με το βαθμό της

αναιμίας. Παρόμοια, τα συμπτώματα μπορεί να περιλαμβάνουν αδυναμία, εύκολη κόπωση, δύσπνοια, ζάλη και κεφαλαλγία (Kim & Despotovic, 2019). Ήπια σπληνομεγαλία παρατηρείται στην AAA θερμού τύπου, αλλά μόνο σε 20% των ασθενών (Bass, et al., 2014). Σε πολύ σοβαρές περιπτώσεις η νόσος μπορεί να συνοδεύεται από σημεία οξείας νεφρικής ανεπάρκειας ή καρδιακής ανεπάρκειας (Hill, et al., 2017).

Παρουσία αιμοσφαιρινουρίας και ακροκυάνωσης υποδηλώνουν AAA ψυχρού τύπου (Vagace, et al., 2014). Σε αυτή την περίπτωση τα συμπτώματα σχετίζονται με τις μεταβολές τις θερμοκρασίας. Σε έκθεση στο ψύχος, εκδηλώνεται ερυθρότητα του δέρματος σε περιφερικά σημεία του σώματος, όπως δάκτυλα, μύτη και αυτιά, ενώ παρατεταμένη έκθεση μπορεί να οδηγήσει σε ισχαιμία και νέκρωση (Michalak, et al., 2020). Η έντονη ενδοαγγειακή αιμόλυση σχετίζεται, επίσης, με λήθαργο, σύγχυση και θωρακικό άλγος, και αποτελεί επείγουσα κατάσταση (Brodsky, 2019). Τέλος, η παροξυντική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία κλινικά εκδηλώνεται με υποτροπιάζοντα επεισόδια εμπυρέτου σχετιζόμενα με αιμοσφαιρινουρία, και αιμόλυση, χωρίς απαραίτητα έκθεση σε ψύχος (Hill & Hill, 2018). Οι ασθενείς διαμαρτύρονται για άλγη στην οσφύ, κοιλιαλγία και κεφαλαλγία (Yarali, et al., 2018). Ηπατοσπληνομεγαλία παρατηρείται στο 25% των ασθενών (Jäger, et al., 2020).

Η παρουσία δυσανάλογης της αιμόλυσης σπληνομεγαλίας ή μαζικής ηπατοσπληνομεγαλίας και λεμφαδενοπάθειας παρατηρείται σε δευτεροπαθείς μορφές AAA και πρέπει να εγείρει την υποψία συνυπάρχουσας λοίμωξης, νεοπλασίας ή αυτοάνοσου λεμφοϋπερπλαστικού συνδρόμου (Michalak, et al., 2020). Η θνητότητα της νόσου, η οποία έχει μειωθεί δραματικά τα τελευταία χρόνια, μπορεί να οφείλεται σε διαδράμους λοιμώξεις, στην ίδια την αιμόλυση ή σε υποκείμενα νοσήματα (Vagace, et al., 2014).

1.4 ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Πέραν της κλινική εικόνας του ασθενούς, η διάγνωση της AAA στηρίζεται σε εργαστηριακά ευρήματα, τα οποία περιλαμβάνουν, καταρχάς την αναιμία, και έπειτα την παρουσία παθολογικών επιπέδων των δεικτών αιμόλυσης και θετικής DAT. Πιο συγκεκριμένα, οι ασθενείς εμφανίζουν, κατά κανόνα, δικτυοερυθροκυττάρωση, έμμεση υπερχολερυθριναιμία, αύξηση της τιμής γαλακτικής δεϋδρογονάσης (LDH) και μείωση των επιπέδων απποσφαιρίνης στον ορό.

Τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης (Hb) αντικατοπτρίζουν άμεσα την κλινική σοβαρότητα της αιμόλυσης. Σε ήπιας βαρύτητας μορφές, τα επίπεδα της κυμαίνονται κοντά στις φυσιολογικές, για την ηλικία και το φύλο, τιμές (Hb>10g/dl), ενώ σε μέτρια, σοβαρή και πολύ σοβαρή AAA, τα επίπεδα Hb είναι 8-10g/dl, 6-8g/dl και <6g/dl αντίστοιχα (Barcellini, et al., 2014). Μελέτες σε ασθενείς με πρωτοπαθή AAA, ανέδειξε τα επίπεδα Hb ως το σημαντικότερο προγνωστικό παράγοντα έκβασης της νόσου και ανάγκης επιθετικής θεραπείας (Barcellini & Fatizzo, 2015) (Jäger, et al., 2020).

Στο επίχρισμα περιφερικού αίματος ανευρίσκονται σφαιροκύτταρα, τα οποία υποδηλώνουν εξωαγγειακή αιμόλυση, ή συσσωρεύσεις ερυθροκυττάρων με μορφή μακρών αλύσων (rouleaux), που επηρεάζουν τα αποτελέσματα του αυτόματου αναλυτή (Miano, 2016). Ο μέσος όγκος ερυθροκυττάρων μπορεί να είναι αυξημένος, λόγω δικτυοερυθροκυττάρωσης ή ήπιας συγκόλλησης των κυττάρων, ενώ η μέση περιεκτικότητα ερυθροκυττάρων δύναται να είναι, επίσης, αυξημένη, αποτέλεσμα της παρουσίας σφαιροκυττάρων ή CA (Kim & Despotovic, 2019). Τα ευρήματα του επιχρίσματος περιλαμβάνουν ακόμα, πολυχρωμασία, ανισοκυττάρωση και, μερικές φορές, παρουσία εμπύρηνων ερυθροκυττάρων (Jäger, et al., 2020). Τέλος, η αυτόματη συγκόλληση ερυθροκυττάρων υποδηλώνει AAA ψυχρού τύπου, ενώ η φαγοκυττάρωση ερυθρών από λευκά αιμοσφαίρια είναι χαρακτηριστική της PCH (Vagace, BajoandGervasini 2014). Η εξέταση του μυελού των οστών δε θεωρείται απαραίτητη στη διάγνωση της AAA, καθώς παρουσιάζει, συνήθως, φυσιολογικά ευρήματα ή αυξημένη κυτταροβρίθεια (Kim & Despotovic, 2019).

Τα δικτυοερυθροκύτταρα αποτελούν απύρνηνα πρόδρομα κύτταρα των ερυθροκυττάρων, παρουσιάζουν μεγάλο μέγεθος και βασεόφιλο κυτταρόπλασμα, εξαιτίας παρουσίας υπολειμμάτων ριβοσωμικού RNA (Barcellini & Fatizzo, 2015). Ο αριθμός των δικτυοερυθροκυττάρων είναι χρήσιμη παράμετρος εκτίμησης της δραστηριότητας του μυελού των οστών, και παρουσιάζεται αυξημένος σε αιμόλυση (Jäger, et al., 2020). Τα επίπεδα τους εκτιμώνται με το δείκτη μυελικής ανταπόκρισης: bone marrow responsiveness index – BMRI = απόλυτος αριθμός δικτυοερυθροκυττάρων x (επίπεδα Hb ασθενούς/ φυσιολογικά επίπεδα Hb). Η δικτυοερυθροκυτταρική ανταπόκριση μπορεί να καθυστερήσει 3 έως 5 ημέρες, ενώ παραμένει επί μακρόν, μέχρι την αποκατάσταση της αναιμίας (Barcellini & Fatizzo, 2015). Σε παιδιατρικούς ασθενείς, ωστόσο, έχει παρατηρηθεί φυσιολογικός ή μειωμένος αριθμός δικτυοερυθροκυττάρων σε ποσοστό μέχρι και 40% (Aladjidi, et al., 2011). Η δικτυοερυθροπενία μπορεί να οφείλεται σε μυελική ανεπάρκεια, ανεπάρκεια

σιδήρου ή βιταμινών, λοιμώξεις, ή, τέλος, δράση άνοσων μηχανισμών (Barcellini & Fatizzo, 2015) (Hill & Hill, 2018). Τόσο τα δικτυοερυθροκύτταρα όσο και τα ενδομυελικά πρόδρομα κύτταρα της ερυθράς σειράς, φαίνεται να αποτελούν στόχο των παραγόμενων αντιερυθροκυτταρικών αυτο-αντισωμάτων, γεγονός που εξηγεί ορισμένες περιπτώσεις AAA, οι οποίες αρχικά εκδηλώνονται ως μεμονωμένη απλασία της ερυθράς σειράς (Jastaniah, et al., 2004) (Miano, et al., 2014). Η δικτυοερυθροπενία θεωρείται δυσμενής προγνωστικός παράγοντας και αντιπροσωπεύει δυνητικά επείγουσα κλινική κατάσταση. Οι ασθενείς αυτοί, συνήθως, διαγιγνώσκονται με σοβαρή αναιμία, απαιτούν επιθετική θεραπεία και συχνές μεταγγίσεις συμπυκνωμένων ερυθροκυττάρων (Kalfa, 2016) (Barcellini & Fatizzo, 2015).

Από την άλλη, έμμεση υπερχολυρεθριναιμία είναι εμφανής σε εξωαγγειακή αιμόλυση, ενώ η LDH είναι ιδιαίτερα αυξημένη σε ενδοαγγειακή αιμόλυση, χωρίς να αποτελούν, ωστόσο, ειδικούς δείκτες, καθώς σχετίζονται και με πολλές άλλες καταστάσεις (Jäger, et al., 2020). Η χολερυθρίνη θεωρείται, ωστόσο, πρώιμος δείκτης ανταπόκρισης στη θεραπεία, καθώς τα επίπεδα της αποκαθίστανται ήδη τις πρώτες 4 ώρες από την παύση της αιμόλυσης (Barcellini, et al., 2014).

Επιπλέον, υπερουριχαιμία περιγράφεται σπάνια στα πλαίσια παιδιατρικής AAA, χρήζει όμως έγκαιρης διάγνωσης για αποφυγή πιθανής νεφρικής βλάβης. Η αύξηση του ουρικού οξέος μπορεί να αποδοθεί είτε σε υποκείμενη λεμφοϋπερπλασία είτε σε καταστροφή εμπύρηνων ερυθρών (Jastaniah, et al., 2004). Τέλος, αιμοσφαιρινουρία παρατηρείται νωρίς σε σοβαρή ενδοαγγειακή αιμόλυση και εξαφανίζεται γρήγορα, ενώ η αιμοσιδηρινουρία εμφανίζεται 3 έως 4 ημέρες μετά την έναρξη της αιμόλυσης και παραμένει για εβδομάδες μετά τη λήξη του επεισοδίου (Michalak, et al., 2020).

Πιο ευαίσθητος δείκτης αιμόλυσης θεωρείται η απποσφαιρίνη, με ευαισθησία και ειδικότητα 83% και 96% αντίστοιχα, στη διάκριση αιμολυτικών και μη αιμολυτικών καταστάσεων. Πρόκειται για γλυκοπρωτεΐνη που δεσμεύει την ελεύθερη κυκλοφορούσα αιμοσφαιρίνη, η οποία προκύπτει από την καταστροφή των ερυθροκυττάρων. Το σύμπλεγμα απποσφαιρίνης-αιμοσφαιρίνης προσλαμβάνεται, εν συνεχεία, από το δικτυοενδοθηλιακό σύστημα και αποδομείται, προστατεύοντας από την δημιουργία ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Η απποσφαιρίνη παρουσιάζεται σημαντικά ελαττωμένη σε συνθήκες αιμόλυσης, λόγω της διαταραχής της ισορροπίας ελεύθερης και συνδεδεμένης σε σύμπλοκο απποσφαιρίνης. Τα επίπεδα της

ομαλοποιούνται τελευταία μετά την ανάρρωση, και πιθανόν να παραμένουν χαμηλά ακόμα και σε αποκατάσταση της τιμής Hb (Barcellini, et al., 2014).

Κατά την έναρξη της νόσου, ιολογικός έλεγχος μπορεί να καταδείξει παλαιότερη ή ενεργό λοίμωξη ως πιθανό έναυσμα αυτής. Σε κάθε περίπτωση κατά τη διάγνωση συστήνεται ανοσολογική διερεύνηση για την ανεύρεση τυχόν υποκείμενης πάθησης. Ο έλεγχος περιλαμβάνει μέτρηση των ανοσοσφαιρινών και των υποτάξεων IgG, έλεγχο παρουσίας αυτο-αντισωμάτων, ανοσοφαινοτύπηση των λεμφοκυττάρων με καταμέτρηση των διπλά αρνητικών T-λεμφοκυττάρων, και γονιδιακό έλεγχο, σε ορισμένες περιπτώσεις (Miano, 2016).

Άμεση δοκιμασία αντισφαιρινικού ορού (DAT)

Η DAT, γνωστή ως άμεση δοκιμασία Coombs, αποτελεί το πιο σημαντικό εργαστηριακό εργαλείο στη διαφοροδιάγνωση της AAA από τις υπόλοιπες αιμολυτικές αναιμίες. Πρόκειται για συνήθη εξέταση, η οποία χρησιμοποιείται στην ανίχνευση ανοσοσφαιρινών ή παραγόντων του συμπληρώματος στη επιφάνεια ερυθροκυττάρων (Bass, et al., 2014). Στην έναρξη της δοκιμασίας χρησιμοποιείται αντι-ανθρώπινη πολυδύναμη σφαιρίνη για την εκτίμηση παρουσίας αντισωμάτων στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων, μέσω της πρόκλησης συγκόλλησης. Στην περίπτωση που η δοκιμασία αναδεικνύεται θετική, μονοδύναμος αντισφαιρινικός ορός διακρίνει τα επικαλυμμένα με IgG ή C3 ερυθροκύτταρα, αλλά όχι τα επικαλυμμένα με IgM ή IgA. Ως προς την περαιτέρω ταυτοποίηση της τάξης των υπεύθυνων αυτο-αντισωμάτων και παραγόντων του συμπληρώματος, χρησιμοποιούνται, εν συνεχεία, ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα για IgG, IgM, IgA και κλάσματα του συμπληρώματος (C3c και C3d) (Barcellini, et al., 2020). Στην κλασική DAT χρησιμοποιείται, αρχικά, μονοδύναμος ορός για την ανίχνευση μόνο IgG ή/και C3d, ενώ σε ειδικές περιπτώσεις εφαρμόζεται το εκτεταμένο DAT πάνελ (Hill & Hill, 2018). Τα IgM αυτο-αντισώματα διαφεύγουν συνήθως των διαδικασιών ανίχνευσης, καθώς αποκολλώνται από τα ερυθροκύτταρα κατά τις διαδικασίες έκπλυσης, ενώ η ανίχνευση τελικά παραγόντων συμπληρώματος στην επιφάνεια ερυθροκυττάρων αποτελεί έμμεσο δείκτη προηγούμενης παρουσίας "κρυμμένου" IgM (Jäger, et al. 2020).

Ο έλεγχος για την ανίχνευση αντισωμάτων στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων θα πρέπει να συνοδεύεται και από έλεγχο ανεύρεσης αντισωμάτων στον ορό του ασθενούς με τη διενέργεια έμμεση δοκιμασίας αντισφαιρινικού ορού

(indirect antiglobulin test - IAT) (Ladogana, et al., 2017). Η διενέργεια IAT σε θερμοκρασία 4°C και 37°C, είναι σημαντική στη διάκριση των θερμών και ψυχρών αντισωμάτων. Η παρουσία πανσυγκόλλησης μαρτυρά την παρουσία τόσο θερμών όσο και ψυχρών αυτο-αντισωμάτων (Rai, et al., 2017).

Η wAIHA παρουσιάζει συνήθως DAT θετική για IgG και αρνητική για C3. Σε ένα ποσοστό ασθενών, ωστόσο, αναδεικνύεται θετική για IgG και ασθενώς θετική για C3, ενώ είναι αρνητική σε περίπου 5% ασθενών με κλινική εικόνα συμβατή με wAIHA (Kim & Despotovic, 2019). Στην περίπτωση της AAA ψυχρού τύπου, η DAT αποβαίνει θετική για C3, ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται υψηλός τίτλος ψυχοσυγκολλητινών (CA) στο ορό του ασθενούς. Παρόμοια DAT εικόνα εμφανίζει και η παροξυντική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία (PCH). Τις περισσότερες φορές σε AAA ψυχρού τύπου γίνεται αντιληπτή αυτόματη συσσώρευση των ερυθροκυττάρων σε θερμοκρασία δωματίου, η οποία εγείρει την υποψία παρουσίας CA. Η ανάδειξη θετικής DAT για C3 πρέπει να ακολουθείται, σε κάθε περίπτωση, από έλεγχο CA και Donath-Landsteiner δοκιμασία (Vagace, et al., 2014). Το θερμικό εύρος δράσης των αντισωμάτων ελέγχεται και η παρουσία CA ενισχύεται από τη διαπίστωση μέγιστης δράσης αντισωμάτων σε θερμοκρασία 4°C και διατήρηση της δραστηριότητας τους έως 30°C (Bass, et al., 2014).

Η AAA μικτού τύπου, με στοιχεία τόσο wAIHA όσο και AAA ψυχρού τύπου, χαρακτηρίζεται από θετική DAT για IgG και C3, με παρουσία υψηλού τίτλου CA (Barcellini, et al., 2020). Στις περιπτώσεις που η DAT αναδεικνύεται θετική τόσο για IgG όσο και C3d, οι ασθενείς πρέπει να ελέγχονται για την παρουσία CA. Η παρουσία κλινικά σημαντικής CA μπορεί να αποκλεισθεί με δοκιμασία άμεσης συσσώρευσης στο εργαστήριο. Συγκεκριμένα, ο ορός του ασθενούς επωάζεται σε θερμοκρασία δωματίου, για 30-60 λεπτά, με αραιωμένα σε φυσιολογικό ορό φυσιολογικά ερυθροκύτταρα. Σε απουσία συσσώρευσης των ερυθροκυττάρων η δοκιμασία θεωρείται αρνητική, ενώ σε θετική δοκιμασία ο ασθενής ελέγχεται περαιτέρω για τη διαφοροδιάγνωση CAS και CAD (Hill, et al., 2017). Τέλος, η παροξυντική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία διαγιγνώσκεται με την ειδική Donath-Landsteiner δοκιμασία, που περιγράφεται παρακάτω.

Παρά όλα αυτά, η θετική εξέταση DAT δεν είναι ειδική για τη διάγνωση της AAA και εμφανίζεται σε ευρύ φάσμα μη αιμολυτικών καταστάσεων. Ο κατάλογος αυτός περιλαμβάνει νοσήματα ήπατος και νεφρών, χρόνιες λοιμώξεις, παρουσία αντι-καρδιολιπινικών αντισωμάτων και αντιπηκτικού του λύκου, καθώς και νεοπλασίες

(Hill, et al., 2017) (Barcellini, et al., 2020). Επιπλέον, η DAT μπορεί να είναι ψευδώς θετική σε παρουσία αλλο-αντισωμάτων μετά από πρόσφατη μετάγγιση, καθυστερημένη αιμολυτική αντίδραση μετά από μετάγγιση, αιμολυτική νόσο των νεογνών και σπάνια σε αιμολυτική αναιμία από μηχανικά αίτια (Jäger, et al., 2020) (Yarali, et al., 2018). Από την άλλη, η DAT μπορεί να είναι θετική χωρίς, όμως, εμφάνιση κλινικών σημείων AAA. Αυτό παρατηρείται σε ελάχιστο ποσοστό των υγιών δωτών αίματος (<0,1%) και σε μεγαλύτερο ποσοστό νοσηλευόμενων ασθενών (0,3-8%) (Jäger, et al., 2020).

Ψευδώς αρνητική DAT προκύπτει είτε αποτέλεσμα παρουσίας αντισωμάτων σε ποσότητα κάτω από το όριο ανίχνευσης είτε λόγω χαμηλής συγγένειας των παρόντων αντισωμάτων με τα ερυθροκύτταρα. Όσον αφορά στην ευαισθησία των διαφορετικών μεθόδων DAT με το κλασικό DAT-σωληνάριο (conventional tube test), η διάγνωση θετικής δοκιμασίας απαιτεί παρουσία τουλάχιστον 500 μορίων αυτο-αντισωμάτων ανά ερυθροκύτταρο, ενώ η δοκιμασία με μικροσωληνίσκους (microcolumn gel card test) χρειάζεται 200-300 μόρια/ερυθροκύτταρο και η κυτταρομετρία μόλις 30-40 μόρια/ερυθροκύτταρο, αποτελώντας την πιο ευαίσθητη μέθοδο (Barcellini, et al., 2020). Τα αυτο-αντισώματα είναι πιθανό να εμφανίζουν, επίσης, χαμηλή συγγένεια με τα ερυθροκύτταρα, με αποτέλεσμα την εύκολη απομάκρυνση τους κατά τη διαδικασία έκπλυσης των ερυθροκυττάρων σε θερμοκρασία δωματίου. Η βελτίωση της ευαισθησίας της DAT σε παρουσία τέτοιων αντισωμάτων είναι εφικτή με την χρήση ειδικών διαλυμάτων (low ionic strength solution - LISS) κατά την προετοιμασία της δοκιμασίας (Kalfa, 2016).

Από την άλλη, η DAT μπορεί να είναι αρνητική σε παρουσία IgM αυτο-αντισώματος με θερμικό εύρος κοντά στους 37°C (θερμό IgM), με αποτέλεσμα δραματική καθυστέρηση της διάγνωσης. Η διενέργεια ειδικής δοκιμασίας (dual direct antiglobulin test – DDAT) δίνει τη δυνατότητα αναγνώρισης θερμών IgM, ωστόσο, είναι προτιμότερο να λαμβάνει χώρα σε εργαστήρια αναφοράς. Ψευδώς αρνητική DAT παρατηρείται, επίσης, σε παρουσία IgA αυτο-αντισωμάτων, για την ανίχνευση των οποίων η DAT διενεργείται με ειδικά αντι-IgA αντισώματα. Τέλος, η χορήγηση συγκεκριμένων θεραπευτικών παραγόντων, όπως ενδοφλέβια γ-σφαιρίνη, αντι-D ανοσοσφαιρίνη, αντιθυμοκυτταρική σφαιρίνη ή daratumumab, αλλά και η παρουσία νοσημάτων με ύπαρξη παραπρωτεϊνών ή αυξημένων σφαιρινών στο ορό, μπορούν να οδηγήσουν σε ψευδώς αρνητική δοκιμασία. Συνολικά σε 5% των ασθενών η διάγνωση της AAA τίθεται, τελικά, μετά από εκτεταμένο εργαστηριακό έλεγχο και τον

αποκλεισμό άλλων αιτιών αιμόλυσης, ενώ ενισχύεται από την κλινική ανταπόκριση των ασθενών σε θεραπεία με κορτικοστεροειδή (Jäger, et al., 2020).

Δοκιμασία Donath - Landsteiner

Πρόκειται για δοκιμασία που πρωτοπεριγράφηκε από τους Donath και Landsteiner πριν 100 χρόνια, και η οποία αποτελεί ακόμα το μοναδικό διαθέσιμο ειδικό εργαλείο στη διάγνωση της PCH (Vagace, et al., 2014). Η τεχνική περιλαμβάνει αρχικά, την επώαση του αίματος του ασθενούς σε θερμοκρασία 4°C για μία ώρα, με σκοπό να επιτραπεί η σύνδεση του αυτο-αντισώματος με το ερυθροκύτταρο. Έπειτα ακολουθεί δεύτερη φάση επώασης, σε θερμοκρασία 37°C για 30 λεπτά, που οδηγεί στην ενεργοποίηση του συμπληρώματος και τελικά την αιμόλυση. Η παρουσία αιμόλυσης κατά τη δοκιμασία είναι ενδεικτική PCH (Jäger, et al., 2020).

Η έγκαιρη διενέργεια της δοκιμασίας κατά την έναρξη της νόσου είναι απαραίτητη για την ορθή διάγνωση. Η μέθοδος είναι πολύπλοκη και απαιτεί συγκεκριμένες προϋποθέσεις. Προκειμένου να αποφευχθεί η αυτο-προσρόφηση, η αιμοληψία πρέπει να γίνεται με προθερμανσμένη σύριγγα και το δείγμα να διατηρείται θερμό μέχρι το διαχωρισμό του ορού. Επιπλέον, συστήνεται η διενέργεια της έμμεσης δοκιμασίας δύο φάσεων με ερυθροκύτταρα που έχουν υποστεί κατεργασία με ένζυμο. Μόνο εάν η δοκιμασία αποβεί αρνητική υπό αυτές τις συνθήκες, μπορεί κανείς να τη θεωρήσει αξιόπιστη και να σκεφτεί εναλλακτικές διαγνώσεις (Vagace, et al., 2014).

1.5 ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η θεραπευτική προσέγγιση της AAA σε παιδιατρικούς ασθενείς προσομοιάζει αυτή των ενηλίκων. Τόσο στην πρωτοπαθή όσο και τη δευτεροπαθή AAA, πρώτης γραμμής θεραπεία αποτελεί η πρεδνιζολόνη, με ανταπόκριση σε 81-100% των παιδιατρικών ασθενών (Hill, et al., 2017). Πρόκειται για την πρώτη θεραπεία που εφαρμόστηκε και η χρήση της παραμένει εμπειρική, χωρίς να έχει επιβεβαιωθεί η αποτελεσματικότητα της σε προοπτικές τυχαίοποιημένες κλινικές μελέτες (Miano, 2016) (Murakhovskaya, 2020). Σε ασθενείς <2ετών ή εφηβικής ηλικίας, η κλινική πορεία μπορεί να παρουσιάσει αντίσταση στα κορτικοστεροειδή ή εξάρτηση από μεγάλες δόσεις αυτών (Naithani, et al., 2007). Ως θεραπεία διάσωσης χρησιμοποιείται η γ-σφαιρίνη με ανταπόκριση στους μισούς περίπου ασθενείς (Hill, et al., 2017).

Λιγοστά δεδομένα είναι διαθέσιμα για τη θεραπεία δεύτερης ή και επόμενης γραμμής σε ανθεκτικές ή υποτροπιάζουσες μορφές της νόσου, η αντιμετώπιση των οποίων είναι ιδιαίτερα απαιτητική στον παιδιατρικό πληθυσμό, λόγω των μακροπρόθεσμων επιπλοκών της χορήγησης κορτικοστεροειδών (Miano, 2016). Η καλύτερα μελετημένη δεύτερης γραμμής θεραπεία είναι η ριτουξιμάμπη (rituximab), με ανταπόκριση σε 75-100% των παιδιατρικών ασθενών με πρωτοπαθή ή δευτεροπαθή AAA.

Όσον αφορά, τέλος, την υποστήριξη με μεταγγίσεις ερυθρών, η πρακτική στους παιδιατρικούς ασθενείς είναι λιγότερο επιθετική σε σχέση με τους ενήλικες, δεδομένου ότι τα παιδιά ανέχονται καλύτερα μεγαλύτερη πτώση της αιμοσφαιρίνης και ότι η αδυναμία καρδιακής αντιρρόπησης είναι ασυνήθης σε $Hb > 5g/dl$ (Hill, et al., 2017).

AAA θερμού τύπου

Ένδειξη για χορήγηση φαρμακευτικής αγωγής στην AAA θερμού τύπου αποτελεί η παρουσία συμπτωματικής αναιμίας. Οι περισσότεροι ασθενείς λαμβάνουν τελικά αγωγή, καθώς η εκδήλωση της νόσου είναι συνήθως οξεία και σοβαρή, ενώ η αυτόματη ύφεση είναι πολύ σπάνια. Επιπλέον, πολλοί ασθενείς, παρά την αρχική θεραπεία, είτε δεν επιτυγχάνουν πλήρη ύφεση είτε δεν καταφέρνουν να τη διατηρήσουν (Jäger, et al., 2020).

Τα κορτικοστεοειδή αποτελούν θεραπεία πρώτης επιλογής σε όλες τις περιπτώσεις AAA θερμού τύπου. Είναι γνωστό ότι παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδη δράση και επηρεάζουν ποικιλοτρόπως την ανοσιακή απάντηση του οργανισμού στα διάφορα ερεθίσματα. Η πιο σημαντική ανοσοκατασταλτική τους δράση τους αφορά στα Τ-κύτταρα, αναστέλλοντας την έκκριση κυτταροκινών. Στην AAA φαίνεται να εμποδίζουν την φαγοκυττάρωση των επικαλυμμένων με αντισώματα ερυθροκυττάρων. Ανά τον κόσμο χρησιμοποιούνται διαφορετικά δοσολογικά σχήματα. Αρχικά συστήνεται η από του στόματος χορήγηση πρεδνιζολόνης σε δόση 1-2mg/kg/d, ωστόσο σε ασθενείς με φτωχή συμμόρφωση μπορεί να χρησιμοποιηθεί ενδοφλέβια μεθυλπρεδνιζολόνη (0,8-1,6mg/kg/d). Σε σοβαρές περιπτώσεις ενδείκνυνται υψηλότερες δόσεις, π.χ μεθυλπρεδνιζολόνη 4-6mg/kg για 3 ημέρες, ενώ περιγράφεται και σχήμα με 30mg/kg/d για 3 ημέρες, στη συνέχεια 20mg/kg/d για 4 ημέρες και μείωση στο μισό της δόσης κάθε εβδομάδα (Ladogana, et al., 2017) (Jaime-Perez, et al., 2018). Η χορήγηση υψηλών δόσεων μεθυλπρεδνιζολόνης ως ρουτίνα ωστόσο αντενδείκνυται (Ladogana, et al., 2017). Η ανταπόκριση στη θεραπεία

είναι εμφανής μετά 1-3 εβδομάδες στο 70-80% των ασθενών. Η μείωση των χορηγούμενων κορτικοστεροειδών πρέπει να γίνεται σταδιακά μετά από 2-3 εβδομάδες από την έναρξη τους, με στόχο τη συνολική χορήγηση τους τουλάχιστον για 6 μήνες (Ladogana, et al., 2018). Η αργή, βαθμιαία μείωση των κορτικοστεροειδών σχετίζεται με μικρότερη πιθανότητα υποτροπής της νόσου και μεγαλύτερης διάρκειας ύφεση (Kim & Despotovic, 2019).

Τα κορτικοστεροειδή παρουσιάζουν σύνθετη ποσοτική και ποιοτική ανοσοκατασταλτική δράση, επάγοντας κυτταρική ανοσοανεπάρκεια, η οποία, όμως, αυξάνει την ευπάθεια των ασθενών σε λοιμώξεις. Συγκεκριμένα, τα κορτικοστεροειδή διαταράσσουν: πρώτον, τη διαδικασία οψωνινοποίησης και φαγοκυττάρωσης, αυξάνοντας τον κίνδυνο βακτηριακών λοιμώξεων· δεύτερον, τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των Τ-κυττάρων, αυξάνοντας την ευπάθεια σε μυκοβακτηριδιακές, ιογενείς και μυκητιασικές λοιμώξεις· και τρίτον, τον πολλαπλασιασμό των ηωσινοφίλων, οδηγώντας σε αυξημένη απόπτωση αυτών και επακόλουθο κίνδυνο παρασιτικών λοιμώξεων. Η *pneumocystis jirovecii* pneumonia (PJP) είναι η πιο συχνή αιτία ευκαιριακής λοίμωξης του αναπνευστικού σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Αντιμικροβιακή προφύλαξη έναντι αυτής συνιστάται σε ασθενείς που πρόκειται να λάβουν για περισσότερο από 4 εβδομάδες υψηλές δόσεις κορτικοστεροειδών (>30mg πρεδνιζολόνη) ή λαμβάνουν χρόνια αγωγή (>8 εβδομάδες) με μέτριες δόσεις κορτικοστεροειδών (15-30mg πρεδνιζολόνη). Ωστόσο, επειδή πλέον υπάρχουν προτιμότερες θεραπείες σε σχέση με τη μακρά χορήγηση κορτικοστεροειδών για την αντιμετώπιση καλοηθών αιματολογικών νοσημάτων, η χορήγηση χημειοπροφύλαξης PJP κατά τη διάγνωση και την έναρξη κορτικοστεροειδών, κατά κανόνα, δεν είναι απαραίτητη (Malpica & Moll, 2020).

Μετά την αρχική ανταπόκριση, 60% των ασθενών εμφανίζει υποτροπή κατά την περίοδο μείωσης των κορτικοστεροειδών ή μετά τη διακοπή τους (Kalfa, 2016). Η υποτροπή της νόσου μπορεί να αντιμετωπισθεί με επαναχορήγηση της ίδιας θεραπείας πρώτης γραμμής, ενώ ένδειξη για έναρξη δεύτερης γραμμής θεραπεία αποτελεί η μη ανταπόκριση στη θεραπεία πρώτης γραμμής μετά από 21 ημέρες ή η εξάρτηση από κορτικοστεροειδή, που ορίζεται ως ανάγκη συνέχισης της πρεδνιζολόνης σε ελάχιστη δόση 0,1-0,2mg/kg/d. Μελέτη σε 265 παιδιατρικούς ασθενείς με AAA έδειξε ανάγκη χορήγησης δεύτερης γραμμής θεραπείας σε ποσοστό 45% (Ladogana, et al., 2018) (Ladogana, et al., 2017). (Σχήμα 2)

Η συμπυκνωμένη γ-σφαιρίνη από ανθρώπινο πλάσμα δοτών δρα αποκλείοντας τους Fc υποδοχείς των μακροφάγων και παραμένει αμφιλεγόμενη θεραπεία. Στο παρελθόν είχε υποστηριχθεί η χορήγηση της σε ασθενείς με πολύ χαμηλή αιμοσφαιρίνη και ηπατομεγαλία (Flores, et al., 1993). Από κάποια κέντρα συστήνεται, πλέον, ως θεραπεία πρώτης γραμμής σε συνδυασμό με χορήγηση κορτικοστεροειδών σε σοβαρές περιπτώσεις (Jaime-Perez, et al., 2018). Λόγω της χαμηλής τοξικότητας, η ενδοφλέβια χορήγηση γ-σφαιρίνης (0,4-0,5g/kg για 5 ημέρες) χορηγείται σε AAA, επιδεικνύοντας μεγαλύτερη ανταπόκριση σε παιδιατρικούς ασθενείς (54,5%), σε σύγκριση με τους ενήλικες (39,7%) (Ladogana, et al., 2017) (Barcellini, et al., 2020). Από την άλλη, λόγω του υψηλού κόστους και της περιορισμένης αποτελεσματικότητας στην wAIHA συστήνεται περιορισμός της χρήσης σε σοβαρές μόνο περιπτώσεις (Michel, 2014).

Η θεραπεία δεύτερης και επόμενης γραμμής περιλαμβάνει αρχικά rituximab, και έπειτα συμβατικά ανοσοκατασταλτικά, όπως αζαθειοπρίνη, κυκλοφωσφαμίδη, κυκλοσπορίνη, και τη σπληνεκτομή (Barcellini, et al., 2020). Το rituximab συστήνεται ως πρώτη επιλογή σε παιδιά με wAIHA και ανθεκτικότητα στη θεραπεία πρώτης γραμμής. Πρόκειται για χιμαιρικό μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του διαμεμβρανικού υποδοχέα CD20 των B-κυττάρων, των υπεύθυνων κυττάρων, δηλαδή, για την παραγωγή αυτο-αντισωμάτων (Reynaud, et al., 2015). Το rituximab εξαλείφει τα B-κύτταρα από την κυκλοφορία για 6 έως 12 μήνες, ενώ επιπλέον παρουσιάζει ανοσοτροποιοτική δράση επιδρώντας στην κυτταρική και φυσική ανοσία. Η κλινική ανταπόκριση στην AAA έχει συσχετισθεί με μείωση κυτταροκινών της Th1 απάντησης (ιντερφερόνη γ, IL-12, IL-17, TNF-α), υποδηλώνοντας ανοσοτροποιοτική δράση στην ισορροπία της Th1/Th2 απάντησης. Έχει χρησιμοποιηθεί ως "εκτός ενδείξεων" θεραπεία σε AAA και παρότι η δράση του έχει αξιολογηθεί σε μικρό αριθμό αναδρομικών και προοπτικών κλινικών μελετών, τα αποτελέσματα καταδεικνύουν αποτελεσματικότητα σε 76-87% των παιδιατρικών ασθενών όταν χορηγείται σε δόση 375mg/m² εβδομαδιαίως για συνολικά 3 ή 4 δόσεις. Ο μέσος χρόνος απάντησης υπολογίζεται σε 4-6 εβδομάδες μετά την πρώτη δόση και η μέση διάρκεια αυτής σε 1-2 έτη. Η πλήρης ανταπόκριση κυμαίνεται από 25% έως 75%, αντανακλώντας την κλινική ετερογένεια της νόσου, ενώ οι μικρότεροι ηλικιακά ασθενείς με μικρότερη διάρκεια νόσου παρουσιάζουν καλύτερα αποτελέσματα. Το ποσοστό υποτροπής τα πρώτα δύο έτη είναι 25-50% (Murakhovskaya, 2020). Μικρότερες δόσεις (100mg σε 4 δόσεις) έχουν δείξει επίσης καλά αποτελέσματα σε προοπτική μελέτη ενήλικων

ασθενών. Η επαναχορήγηση του φαρμάκου σε υποτροπή θεωρείται αποτελεσματική και το φάρμακο είναι γενικά καλά ανεκτό (Ladogana, et al., 2018). Οι ανεπιθύμητες ενέργειες αφορούν, κυρίως, αντιδράσεις σχετιζόμενες με την έγχυση, όπως τοπικές αντιδράσεις, πυρετό ή ρίγος, καθώς και, σπανιότερα, την εμφάνιση ουδετεροπενίας ή υπογαμμασφαιριναιμίας, η οποία αντιμετωπίζεται με θεραπεία υποκατάστασης (Kim & Despotovic, 2019). Παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση υπογαμμασφαιριναιμίας αποτελούν η μικρή ηλικία και η καλύτερη συνολική ανταπόκριση στη θεραπεία. Σε σημαντικό ποσοστό των εν λόγω ασθενών διαγιγνώσκεται, τελικά, πρωτοπαθής ανοσοανεπάρκεια, δεδομένου ότι υπό φυσιολογικές συνθήκες, τόσο τα πλασματοκύτταρα όσο και τα προ Β-κύτταρα στερούνται έκφρασης CD20 και δεν θα έπρεπε να επηρεάζονται από τη χορήγηση rituximab, διατηρώντας τη λειτουργία τους στην παραγωγή αντισωμάτων και την ανοσιακή ανασύσταση των Β-κυττάρων (Ottaviano, et al., 2020). Σοβαρότερες αντιδράσεις, όπως ορονοσία, προοδευτική πολυεστιακή εγκεφαλοπάθεια και αναζωπύρωση ηπατίτιδας Β, είναι σπάνιες στον παιδιατρικό πληθυσμό. Το εμβολιαστικό πρόγραμμα των ασθενών αναστέλλεται μέχρι την πλήρη επαναφορά των Β-κυττάρων (Kim & Despotovic, 2019).

Διαφορετικά ανοσοκατασταλτικά φάρμακα, εκτός κυκλοφωσφαμίδης, είναι αποδεκτά ως δεύτερης γραμμής θεραπεία στην προσπάθεια διακοπής χορήγησης κορτικοστεροειδών. Δεδομένου ότι τα φάρμακα αυτά απαιτούν αρκετό χρόνο για επίτευξη ανταπόκρισης, αρχικά η χορήγηση τους αλληλεπικαλύπτεται με τη χορήγηση στεροειδών. Το mycophenolate mofetil (MMF), ισχυρός αναστολέας του ενζύμου inosine-5'-monophosphate dehydrogenase στη σύνθεση των πουρινών, επιδρά κυρίως στα Β, Τ και ΝΚ λεμφοκύτταρα και συστήνεται σε κορτικοεξαρτώμενη ΑΑΑ με στόχο της μείωσης των στεροειδών. Η συνιστώμενη δόση MMF είναι 600mg/m² δύο φορές την ημέρα και η εκτίμηση της απόκρισης γίνεται μετά τους πρώτους 3 μήνες θεραπείας. Λόγω της καθυστερημένης απάντησης, το φάρμακο συνδυάζεται αρχικά με πιο επιθετική θεραπεία, όπως υψηλές δόσεις στεροειδών ή rituximab, και δίνεται ως θεραπεία συντήρησης (Miano, 2016). Η αποτελεσματικότητά του στην ΑΑΑ και το σύνδρομο Evans φτάνει το 62-100%, με μακροπρόθεσμη ύφεση μετά τη διακοπή του, ενώ οι ανεπιθύμητες ενέργειες είναι λίγες, κυρίως ναυτία και διάρροια, ή και ανύπαρκτες (Jäger, et al., 2020) (Panigrahi, et al., 2016) (Miano, 2016). Η εμφάνιση ευκαιριακών λοιμώξεων έχει περιγραφεί, αν και μελέτες έδειξαν ότι τα Τregs, CD4 και CD8 λεμφοκύτταρα παραμένουν ανεπηρέαστα μετά την έναρξη της θεραπείας (Malpica & Moll, 2020) (Panigrahi, et al., 2016). Σε παιδιατρικούς ασθενείς που

ανταποκρίνονται στη θεραπεία, το MMF μπορεί να χορηγηθεί ασφαλώς για 2 χρόνια και έπειτα συνιστάται σταδιακή μείωση και διακοπή εντός 6μήνου (Miano, 2016).

Η αζαθειοπρίνη αποτελεί δεύτερη επιλογή μετά το mycophenolate mofetil, λόγω των ανεπιθύμητων ενεργειών. Συνήθης ημερήσια δόση είναι 2-2,5mg/kg και τα ποσοστά ανταπόκρισης κυμαίνονται μεταξύ 59-71%. Η έλλειψη του ενζύμου thiopurine methyltransferase αυξάνει την μυελοτοξικότητα του φαρμάκου και πρέπει να αποκλείεται πριν την έναρξη της θεραπείας (Jäger, et al., 2020). Επιπλέον, οι αντιμεταβολίτες, αζαθειοπρίνη όπως και MMF, αυξάνουν τον κίνδυνο για προοδευτική πολυεστιακή εγκεφαλοπάθεια και σε εκδήλωση νευρολογικών σημείων συστήνεται επείγουσα νευρολογική εκτίμηση του ασθενούς (Malpica & Moll, 2020).

Το sirolimus αποτελεί αναστολέα mTOR (mammalian target of rapamycin) των T-κυττάρων με επακόλουθη καταστολή των Th1, Th17, Th2 και CD8 κυττάρων, αλλά και επαγωγή της διαφοροποίησης και πολλαπλασιασμού των CD4+FoxP3+Tregs και των μνημονικών CD8. Ενώ και άλλα ανοσοκατασταλτικά φάρμακα οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο και την απόπτωση των μη φυσιολογικών λεμφοκυττάρων, μόνο το sirolimus είναι γνωστό ότι, πέραν αυτού, αυξάνει τα επίπεδα Tregs στην περιφέρεια. (Williams, et al., 2020). Χρησιμοποιείται για περισσότερο από 20 χρόνια τόσο στις άνοσες κυτταροπενίες όσο και στη μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων και έχει επιδείξει ασφαλές προφίλ. Η δράση του μπορεί να επιτύχει αποκατάσταση της ανοσοανοχής και επαγωγή μακροχρόνιας ύφεσης σε παιδιατρικούς ασθενείς με πρωτοπαθή ανθεκτική AAA αλλά και υποκείμενα νοσήματα όπως ALPS (Williams, et al., 2020). Συνήθης δόση sirolimus είναι 2-3mg/m² άπαξ ημερησίως, με προτεινόμενα επίπεδα φαρμάκου 4-12ng/ml (ιδανικά 9ng/ml) για τουλάχιστον 3 μήνες πριν την εκτίμηση της ανταπόκρισης (Miano, 2016). Οι αναφερόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες παρουσιάζουν ευρεία διακύμανση μεταξύ 5,9-53,3%, με συχνότερη την βλεννογονίτιδα. Η πλειονότητα αυτών εκδηλώνονται τους πρώτους 3 μήνες και υποχωρούν με ή χωρίς θεραπεία (Li, et al., 2020). Με τα μέχρι στιγμής δεδομένα συστήνεται ως θεραπεία διάσωσης μετά από αποτυχία του MMF σε ασθενείς με χρόνια/ανθεκτική AAA ή σύνδρομο Evans (Miano, et al., 2014) (Miano, 2016).

Η κυκλοσπορίνη ενδείκνυται, επίσης, σε επιλεγμένους ασθενείς ανθεκτικούς στην κορτικοθεραπεία (Ladogana, et al., 2018). Ο μηχανισμός δράσης της περιλαμβάνει την αναστολή ενεργοποίησης των T-κυττάρων (Jaime-Perez, et al., 2018). Έχει χρησιμοποιηθεί σε δόση 2,5mg/kg δύο φορές ημερησίως ως εναλλακτική επιλογή σε ενήλικες και παιδιά με ανθεκτική AAA και σύνδρομο Evans, καθώς και στα

πλαίσια συνδυαστικής θεραπείας με danazol ή πρωτόκολλα με vincristine και methylprednisone εβδομαδιαίως. Εξαιτίας των ανεπιθύμητων ενεργειών, όπως νεφροτοξικότητα ή νεοπλασία, που έχουν παρατηρηθεί μετά μακροχρόνια χορήγηση της, αλλά και της ανάγκης τακτικής κλινικής και εργαστηριακής εκτίμησης των επιπέδων του φαρμάκου στον ορό του αίματος, η κυκλοσπορίνη συστήνεται μόνο σε αποτυχία των νεότερων, καλύτερα ανεκτών φαρμάκων όπως (MMF ή sirolimus), ενώ η χρήση της σε εντατικότερα συνδυαστικά πρωτόκολλα ενδείκνυται μόνο σε αποτυχία άλλων στοχευμένων φαρμάκων όπως το rituximab (Miano, 2016). Το αναφερόμενο ποσοστό ανταπόκρισης ανέρχεται σε 58% σε όλους τους τύπους AAA (Jäger, et al., 2020). Λόγω ελλιπών δεδομένων σχετικά με τον κίνδυνο εμφάνισης λοιμώξεων, δε συστήνεται χορήγηση χημειοπροφύλαξης στους ασθενείς που λαμβάνουν κυκλοσπορίνη για καλόηθες αιματολογικό νόσημα ανοσολογικής αρχής (Malpica & Moll, 2020).

Τέλος, σε ανεπαρκή απάντηση στους προαναφερθέντες παράγοντες και παρά το ότι σχετιζόμενα θέματα ασφάλειας παραμένουν, η χορήγηση υψηλών δόσεων κυκλοφωσφαμίδης προτιμώνται έναντι της διενέργειας σπληνεκτομής (Ladogana, et al., 2018). Η κυκλοφωσφαμίδη αποτελεί ισχυρό αλκυλιωτικό παράγοντα με αντιμιτωτική και ανοσοτροποιοτική δράση, ο οποίος μπορεί να καταστείλει την ανοσολογική απόκριση (Jaime-Perez, et al., 2018). Χορηγείται σε ημερήσια από του στόματος δόση 1-2mg/kg ή υψηλές δόσεις (200mg/kg για 5 ημέρες) ενδοφλέβια σε AAA ή σύνδρομο Evans (Miano, 2016). Από τα λίγα διαθέσιμα δεδομένα η ανταπόκριση υπολογίζεται στο 70% των ασθενών, με σημαντικές ωστόσο ανεπιθύμητες ενέργειες, όπως μυελοκαταστολή, λοιμώξεις, ουροτοξικότητα, δευτεροπαθή νεοπλασία και στειρότητα (Jäger, et al. 2020). Σε συνδυαστική θεραπεία με κορτικοστεροειδή συστήνεται χημειοπροφύλαξη PJP μέχρι τη μείωση της δόσης πρεδνιζολόνης <5mg/d (Malpica & Moll, 2020).

Όσον αφορά στη σπληνεκτομή, η οποία οδηγεί στη μείωση του ερυθροκυτταρικού εγκλωβισμού και της παραγωγής αντισωμάτων από το σπλήνα (Ladogana, et al., 2018), θεωρούνταν επί μακρόν η ιδανική θεραπεία δεύτερης γραμμής για ασθενείς με σύνδρομο Evans, λόγω της καλής βραχυπρόθεσμης ανταπόκρισης, αν και η αποτελεσματικότητά της ποικίλει και κυμαίνεται από 0-66% (Jaime-Perez, et al., 2018) (Miano, 2016). Η ανταπόκριση των ασθενών με πρωτοπαθή AAA θερμού τύπου υπολογίζεται σε 70%, και 40% αυτών επιτυγχάνουν πλήρη ύφεση. Ωστόσο, το ένα τρίτο των ασθενών υποτροπιάζει και η πιθανότητα

μακροπρόθεσμης ύφεσης (>10έτη) είναι γενικά άγνωστη (Jäger, et al., 2020). Η ανεπάρκεια της πρακτικής αυτής οφείλεται στην αυξημένη σύνθεση αυτοαντισωμάτων από τα υπόλοιπα λεμφικά όργανα και στην ανάληψη από το ήπαρ της σπληνικής λειτουργίας ερυθροκυτταρικής καταστροφής (Barcellini, 2015). Οι επιπλοκές της αποτελούν ακόμα έναν ανασταλτικό παράγοντα διενέργειας της, ενώ αντενδείκνυται σε παιδιά <6 ετών λόγω της ανωριμότητας του ανοσιακού συστήματος. Τα τελευταία χρόνια η διενέργεια λαπαροσκοπικής σπληνεκτομής έχει περιορίσει τους χειρουργικούς κινδύνους, ενώ ο προεγχειρητικός εμβολιασμός και η χορήγηση χημειοπροφύλαξης για τουλάχιστον 3 έτη μετά τη σπληνεκτομή έχει μειώσει τη συχνότητα των σοβαρών λοιμώξεων, η οποία παλαιότερα υπολογιζόταν σε ποσοστό έως και 33% των ασθενών (Miano, 2016). Επιπλέον, ο κίνδυνος επεισοδίου θρόμβωσης μετά από σπληνεκτομή στους παιδιατρικούς ασθενείς είναι χαμηλός μεν, ωστόσο, υπαρκτός (Kim & Despotovic, 2019). Βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με την πραγματική αποτελεσματικότητα της σπληνεκτομής σε παιδιατρικούς ασθενείς με AAA δεν είναι διαθέσιμα και η διενέργεια της δεν αποτελεί πλέον δεύτερης, αλλά τρίτης γραμμής θεραπεία για ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται σε άλλες θεραπείες.

Πέρα από τα παραπάνω, διάφορα ακόμα φάρμακα έχουν χρησιμοποιηθεί στην αντιμετώπιση της AAA. Το alemtuzumab είναι ένα ανθρωποποιημένο αντι-CD52 μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο στρέφεται εναντίον των T-, B-λεμφοκυττάρων, μονοκυττάρων και ηωσινοφίλων. Έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς σε ενήλικες και παιδιά με AAA σε δόση 10mg/m²/d για 10 ημέρες, αλλά οι περισσότεροι ασθενείς υποτροπίασαν μετά τη θεραπεία (Miano, 2016) (Jaime-Perez, et al., 2018). Ενδεχομένως, η χορήγηση του θα είχε θέση σε σοβαρή AAA μετά από αποτυχία του rituximab (Miano, 2016). Επιπλέον, το bortezomib έχει χρησιμοποιηθεί σε μικρό αριθμό παιδιατρικών ασθενών με άνοση κυτταροπενία. Πρόκειται για αναστολέα του 26S πρωτεοσώματος και στοχεύει τα πλασματοκύτταρα. Η ιδέα προέκυψε από την αποτυχία καταστολής της αντισωματικής απάντησης σε ορισμένους ασθενείς μετά αντι-CD20 θεραπεία λόγω παραμονής στην κυκλοφορία πλασματοκυττάρων που δεν επηρεάζονται από το rituximab και συντηρούν τη νόσο (Miano, 2016). Ενδοφλέβια χορήγηση bortezomib σε δόση 1,3mg/m²εβδομαδιαίως για 1-4 εβδομάδες έχει δοκιμασθεί με ικανοποιητικά αποτελέσματα σε παιδιατρικούς ασθενείς με υποτροπή AAA μετά από αλλογενή μεταμόσχευση. Στις ανεπιθύμητες ενέργειες περιγράφονται νευροπάθεια, ουδετεροπενία, θρομβοπενία, διάρροια, εξάνθημα και κόπωση (Jäger, et al., 2020). Ένα ακόμα μονοκλωνικό αντίσωμα το οποίο στοχεύει τα

πλασματοκύτταρα, το daratumumab, έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς σε συνδυασμό με κλασική θεραπευτική αγωγή σε παιδί με εκδήλωση wAIHA μετά από λήψη χημειοθεραπείας λόγω ιστοκυττώσης Langerhans (Cooling & Hagan , 2019). Τέλος, η vincristine μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε σύνδρομο Evans, κυρίως όμως για αντιμετώπιση της θρομβοπενίας και σε συνδυασμό με άλλη αγωγή (Hill, et al., 2017).

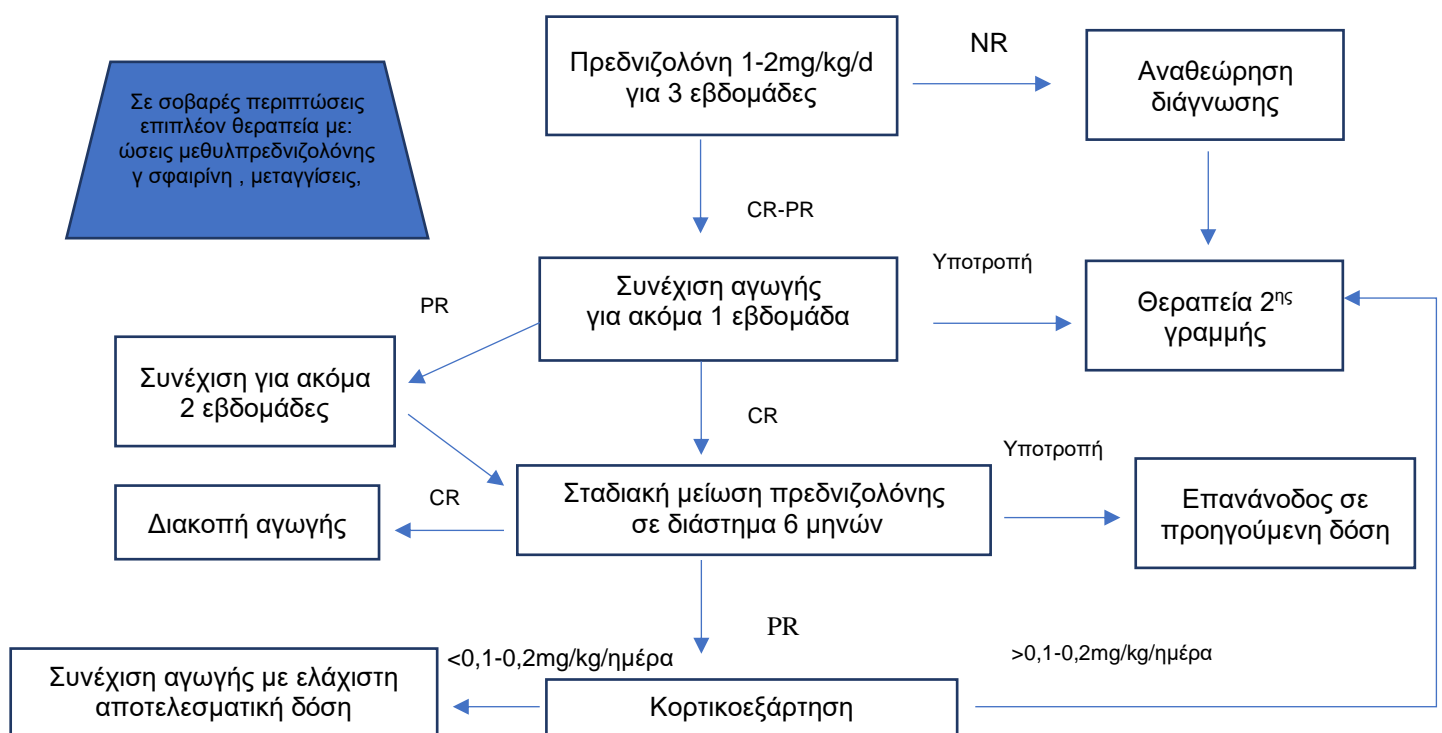
Σε σοβαρές μορφές της νόσου εφαρμόζεται υποστηρικτική θεραπεία, η οποία περιλαμβάνει καταρχάς τη μετάγγιση λευκαφαιρεμένων συμπυκνωμένων ερυθροκυττάρων. Η μετάγγιση πρέπει να γίνεται αργά και με μικρούς όγκους (3-5ml/kg), ενώ ταυτόχρονα απαιτεί στενή παρακολούθηση του ασθενούς (Ladogana, et al., 2017). Τα μεταγγιζόμενα ερυθροκύτταρα είναι πιθανό να καταστραφούν από τα κυκλοφορούντα αυτο-αντισώματα και να οδηγήσουν σε περαιτέρω ενεργοποίηση του ανοσιακού μηχανισμού. Στην πράξη το μεγάλο εύρος δράσης των αυτο-αντισωμάτων δυσχεραίνει την ανεύρεση συμβατού δότη αίματος και η επιλογή γίνεται τελικά με βάση την καλύτερα συμβατή μονάδα (Miano, 2016). Σε κρίσιμες καταστάσεις η μετάγγιση δεν πρέπει να καθυστερεί λόγω αβεβαιότητας στη διασταύρωση του αίματος (Jäger, et al., 2020). Αν ο ασθενής δεν έχει λάβει στο παρελθόν μετάγγιση, δύναται να μεταγγισθεί ακόμα και με παθολογική δοκιμασία διασταύρωσης. Η παρουσία αλλο-αντισωμάτων είναι εξαιρετικά σπάνια και οι οξείες αντιδράσεις οφειλόμενες στη μετάγγιση ασυνήθεις, καθώς τόσο τα μεταγγιζόμενα όσο και τα ερυθροκύτταρα του ασθενούς έχουν την ίδια διάρκεια ζωής παρουσία αυτο-αντισώματος. Αντίθετα, ασθενείς που έχουν υποβληθεί στο παρελθόν σε μετάγγιση εμφανίζουν συχνά αλλο-αντισώματα παράλληλα με αυτο-αντισώματα. Το αλλο-αντίσωμα επισκιάζεται σε εργαστηριακή ανεύρεση πανσυγκόλλησης και μπορεί να προκαλέσει καθυστερημένη αιμολυτική αντίδραση με επιδείνωση της αναιμίας (Vagace, et al., 2014). Δεδομένου ότι η πλήρης δοκιμασία συμβατότητας είναι μακρά, με διάρκεια 4 έως 6 ώρες, σε απειλητική για τη ζωή αναιμία συστήνεται μετάγγιση με ABO ,Rhesus και Kell συμβατά ερυθροκύτταρα, παρά η αναμονή για ανεύρεση απόλυτα συμβατού δότη (Hill & Hill, 2018).

Ως θεραπεία διάσωσης σε επείγουσες καταστάσεις AAA θερμού τύπου χορηγείται, επίσης, ερυθροποιητίνη σε υψηλές σχετικά δόσεις, η οποία μπορεί να φανεί χρήσιμη σε ασθενείς με σχετικά χαμηλό αριθμό δικτυοερυθροκυττάρων (Jäger, et al., 2020). Από την άλλη, η επιλογή της πλασμαφαίρεσης για την απομάκρυνση από την κυκλοφορία ανοσοσυμπλεγμάτων, ενεργοποιημένων παραγόντων συμπληρώματος και αυτο-αντισωμάτων έχει μελετηθεί ελάχιστα στα παιδιά.

Συστήνεται σε εξαιρετικά σοβαρή AAA, που δεν ανταποκρίνεται σε φαρμακευτική αγωγή και μεταγγίσεις. Υπολογίζεται ότι κάθε κύκλος απομακρύνει το 60% των κυκλοφορούντων αυτο-αντισωμάτων και συχνά απαιτεί επανάληψη (Ladogana, et al., 2017). Επιπλέον, οι Li και συνεργάτες επιχείρησαν καινοτόμα θεραπεία με ολική αφαιμαξομετάγγιση (whole blood exchange - WBE) σε μικρό αριθμό παιδιατρικών ασθενών επιτυγχάνοντας καλά αποτελέσματα. Η WBE απομακρύνει από την κυκλοφορία ευαισθητοποιημένα και κατεστραμμένα ερυθροκύτταρα, πλάσμα και ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα, τα οποία αντικαθίστανται από πλάσμα και ερυθροκύτταρα δότη. Αποτέλεσμα της απομάκρυνσης τόσο των αντισωμάτων όσο και των αντιγόνων από την κυκλοφορία, ήταν η μείωση της ερυθροκυτταρικής καταστροφής και δημιουργία καλύτερου μικροπεριβάλλοντος για τη δράση κορτικοστεροειδών ή άλλων φαρμάκων (Li, et al., 2015).

Τέλος, η μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (HSCT) συστήνεται σε ασθενείς με σοβαρή, μεταγγισιοεξαρτώμενη και ανθεκτική σε θεραπεία τρίτης γραμμής AAA, συμπεριλαμβανομένης και της σπληνεκτομής (Ladogana, et al., 2018). Υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα σχετικά με την αυτόλογη και την αλλογενή HSCT σε ασθενείς με AAA ή σύνδρομο Evans και η αναφερόμενη πλήρης ύφεση της νόσου ανέρχεται στο 50% (Miano, 2016)

Σχήμα 2. Θεραπεία AAA θερμού τύπου. NR: no response, PR: partial response, CR: complete response



AAA ψυχρού τύπου

Σε αντίθεση με την AAA θερμού τύπου, η αρχική προσέγγιση μπορεί να περιλαμβάνει την παρακολούθηση του ασθενούς και την χορήγηση μόνο φολικού οξέος (Jäger, et al., 2020). Επιπλέον συντηρητικά μέτρα περιλαμβάνουν τη παραμονή του ασθενούς σε θερμό περιβάλλον, την επαρκή ενυδάτωση και την παρακολούθηση των αποβαλλόμενων υγρών σε περίπτωση σοβαρής ενδοαγγειακής αιμόλυσης (Ladogana, et al., 2017) (Hill & Hill, 2018). Η αντιμετώπιση της AAA ψυχρού τύπου βασίζεται στην αντιμετώπιση της υποκείμενης πάθησης, η οποία αφορά κυρίως σε λοίμωξη σε περίπτωση CAS. Σε ορισμένες ιογενείς λοιμώξεις ωστόσο η αιτιολογική αντιμετώπιση δεν είναι δυνατή, ενώ σε άλλες η αντιική θεραπεία δεν είναι απαραίτητη, γιατί το CAS είναι ήπιο και αυτοπεριοριζόμενο (Berentsen, et al., 2015).

Σοβαρή και επικίνδυνη για τη ζωή αιμόλυση και αναιμία μπορεί να συμβεί μερικές φορές σε οξείες καταστάσεις όπως λοίμωξη, χειρουργική επέμβαση ή έκθεση στο κρύο, με ανάγκη εφαρμογής θεραπείας διάσωσης. Όπου απαιτείται εφαρμόζεται μετάγγιση συμπυκνωμένων ερυθροκυττάρων, ενώ η χορήγηση κρύων ενδοφλέβιων υγρών πρέπει να αποφεύγεται και συστήνεται η χρήση συστήματος θέρμανσης των χορηγούμενων υγρών ή αίματος (Hill & Hill, 2018). Σε αντίθεση με την wAIHA, στην AAA ψυχρού τύπου ανευρίσκεται εύκολα συμβατός δότης ερυθροκυττάρων. Οι δοκιμασίες της διασταύρωσης λαμβάνουν χώρα στους 37°C, χωρίς προβλήματα (Kim & Despotovic, 2019).

Η αφαιμαξομετάγγιση αποτελεί θεραπευτική επιλογή στην οξεία φάση της AAA για την απομάκρυνση ταυτόχρονα ευαισθητοποιημένων ερυθροκυττάρων και αυτοαντισωμάτων από την κυκλοφορία. Από τη άλλη, η πλασμαφαίρεση μπορεί να φανεί χρήσιμη σε IgM επαγόμενη AAA, λόγω της κατανομής των IgM αντισωμάτων ενδοαγγειακά, σε σύγκριση με τα IgG (Ladogana, et al., 2017).

Φαρμακευτική αγωγή συστήνεται σπάνια και αφορά σε μεταγγισιοεξαρτώμενες μορφές της νόσου. Τα κορτικοστεροειδή επάγουν περιορισμένη κλινική ανταπόκριση σε <15% των ασθενών με AAA ψυχρού τύπου, ενώ μπορεί να είναι χρήσιμα σε πολύ υψηλές αλλά μη αποδεκτές δόσεις (Ladogana, et al., 2017). Γενικά δε συστήνονται σε AAA ψυχρού τύπου, ενώ αν χορηγηθούν διακόπτονται πιο επιθετικά (Kalfa, 2016). Απογοητευτικά είναι επίσης τα αποτελέσματα από τη χορήγηση της πλειοψηφίας των ανοσοκατασταλτικών, ενώ και η σπληνεκτομή είναι αναποτελεσματική, καθώς η απομάκρυνση των C3 οψωνοποιημένων ερυθροκυττάρων λαμβάνει χώρα πρωτίστως στο ήπαρ (Murakhovskaya, 2020) (Barcellini, et al., 2020).

Σχετική επιτυχία στη θεραπεία της CAD τις τελευταίες δεκαετίες προέκυψε από τη στόχευση των παθογόνων Β-κυττάρων (Berentsen, et al., 2015). Το rituximab παρουσιάζεται αποτελεσματικό και καλά ανεκτό, με ανταπόκριση σε 45-60% των περιστατικών τόσο πρωτοπαθούς CAD όσο και δευτεροπαθούς CAS, και το ποσοστό ανταπόκρισης αυξάνεται με την προσθήκη fludarabine. Το rituximab συστήνεται, λοιπόν, ως πρώτη γραμμής θεραπεία σε πρωτοπαθή AAA ψυχρού τύπου (Ladogana, et al., 2017). Η πλήρης ύφεση ωστόσο είναι σπάνια και η διάρκεια της μικρή, μόλις 6-11 μήνες. Πρόσφατη πολυκεντρική μη τυχαιοποιημένη μελέτη ανέδειξε ενθαρρυντικά αποτελέσματα της συνδυαστικής θεραπείας rituximab (375mg/m² μία φορά την εβδομάδα) και bendamustine (90mg/m² 2 φορές την εβδομάδα) για 4 εβδομάδες, με συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης αρχικά 71% και αύξηση αυτού σε 78% στην πορεία, γεγονός που μαρτυρά προοδευτική ανταπόκριση σε βάθος χρόνου. Ο συνδυασμός αυτός συστήνεται πλέον ως θεραπεία δεύτερης γραμμής σε CAD (Murakhovskaya, 2020).

Παροξυντική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία

Λόγω της παροδικής φύσης της νόσου, η αρχική αντιμετώπιση της PCH είναι υποστηρικτική. Στην οξεία φάση, μπορεί να χρειαστεί μετάγγιση συμπυκνωμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων, λόγω σοβαρής ενδοαγγειακής αιμόλυσης, χωρίς, ωστόσο, ανάγκη χορήγησης παραγώγων αρνητικών για Ρ-αντιγόνο. Και σε αυτή την περίπτωση συστήνεται η θέρμανση των υγρών πριν τη χορήγηση (Kim & Despotovic, 2019). Η έκθεση στο ψύχος πρέπει να αποφεύγεται, ενώ η ενεργητική θέρμανση του ασθενούς δεν φαίνεται να βοηθά. Σε απειλητικές για τη ζωή καταστάσεις, η πλασμαφαίρεση μπορεί προσωρινά να μειώσει την αιμόλυση, ενώ και η κορτιζόνη χρησιμοποιείται σε σοβαρές ή επίμονες περιπτώσεις (Barcellini & Fatizzo, 2015).

1.6 ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗΣ AAA – ΥΠΟΚΕΙΜΕΝΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Η παιδιατρική AAA αποτελεί συχνά δευτεροπαθή εκδήλωση ανοσολογικού ή άλλου υποστρώματος. Εθνική, γαλλική μελέτη παρατήρησης έδειξε ότι, στο 15% παιδιατρικών ασθενών με AAA, η διάγνωση της AAA έγινε σε έδαφος προϋπάρχοντος ανοσολογικού νοσήματος ή προϋπάρχουσας πρωτοπαθούς ανοσοανεπάρκειας. Από την άλλη, 38% των ασθενών με AAA διεγνώσθησαν με ανοσολογικό νόσημα ή

πρωτοπαθή ανοσοανεπάρκεια στην πορεία της παρακολούθησης τους, ενώ τα μισά περίπου περιστατικά που είχαν αναγνωρισθεί αρχικά ως μεταλοιμώδη (*Mycoplasma*, Epstein-Barr virus, influenza κ.α), τελικά διεγνώσθησαν με υποκείμενη ανοσολογική διαταραχή (Kalfa, 2016). Έτσι, κατά τη διάγνωση αλλά και κατά την παρακολούθηση ασθενών με AAA συστήνεται διερεύνηση ως προς την ύπαρξη υποκείμενου νοσήματος, όπως λεμφοϋπερπλαστική νόσο, αυτοάνοσα νοσήματα ή πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες (Jäger, et al., 2020).

Αυτοάνοσες διαταραχές, όπως αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, θυρεοειδίτιδα Hashimoto, νόσος Sjögren και συχνότερα συστηματικός ερυθρηματώδης λύκος, έχουν συσχετισθεί με το σύνδρομο Evans (Kim & Despotovic, 2019). Από τη άλλη, τα τελευταία χρόνια, με την πρόοδο στην αλληλούχιση του γονιδιώματος έχουν αναγνωρισθεί ως αιτίες συνδρόμων πρωτοπαθούς ανοσοανεπάρκειας, μεταλλάξεις σε διαφορετικά γονίδια, όπως NRAS, KRAS, MAGT1, CASP8, FADD, PRKCD, CTLA4, LRBA, PI3K, and STAT3. Καθένα από αυτά εμφανίζει ξεχωριστά κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά και ποικιλία στην πιθανότητα εκδήλωσης αυτοάνοσης κυτταροπενίας (Kalfa, 2016).

Αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο (autoimmune lymphoproliferative syndrome - ALPS)

Το ALPS χαρακτηρίζεται από ανεξέλεγκτο λεμφοκυτταρικό πολλαπλασιασμό, σε απουσία νεοπλασίας ή λοίμωξης. Πρόκειται για κληρονομούμενο νόσημα και οφείλεται σε διαταραχή του FAS μονοπατιού του μηχανισμού κυτταρικής απόπτωσης. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η ενεργοποίηση του Fas, που εκφράζεται σημαντικά στα ενεργοποιημένα Β- και Τ-κύτταρα, ενεργοποιεί τον καταρράκτη που οδηγεί στην αποδόμηση του DNA και τον κυτταρικό θάνατο (Price, 2013). Σε αδυναμία απόπτωσης, τα ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα επιβιώνουν και οδηγούν σε χρόνια λεμφοϋπερπλασία και πολλαπλασιασμό αυτο-αντιδραστικών κυττάρων (Rivalta, et al. 2019). Σε ποσοστό 70% των ασθενών ανευρίσκεται γνωστή μετάλλαξη, με τη συχνότερη να αφορά γαμετική μετάλλαξη του γονιδίου FAS, ενώ ακολουθούν οι σωματικές μεταλλάξεις σε γονίδια FAS, FASL, CASP8, CASP10 και NRAS (Price, 2013) (Rotz, et al., 2018).

Η νόσος εκδηλώνεται κλινικά, συνήθως την πρώτη δεκαετία ζωής (Rotz, et al., 2018). Οι ασθενείς εμφανίζουν λεμφαδενοπάθεια, σπληνομεγαλία - με ή χωρίς

ηπατομεγαλία - σε συνδυασμό με άνοσες κυτταροπενίες, και εμφανίζουν υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης δευτεροπαθών νεοπλασιών, κυρίως λεμφώματος. Οι αυτοάνοσες εκδηλώσεις μπορεί να περιλαμβάνουν επίσης ηπατίτιδα, σπειραματονεφρίτιδα, διάμεση πνευμονοπάθεια και ραγοειδίτιδα (Kalfa, 2016). Από ορισμένους, το σύνδρομο θεωρείται αιτία δευτεροπαθούς συνδρόμου Evans και έχει περιγραφεί συνύπαρξη ALPS και συνδρόμου Evans σε ποσοστό 47-50% των ασθενών. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η συσχέτιση αυτή περιγράφεται μόνο σε παιδιατρικό πληθυσμό (Jaime-Perez, et al., 2018).

Η διάγνωση της νόσου στηρίζεται στην χρόνια καλοήγη λεμφοϋπερπλασία ή σπληνομεγαλία για περισσότερο από 6 μήνες, καθώς και την αύξηση των διπλά αρνητικών T- κυττάρων (double negative T cells – DNT) στο περιφερικό αίμα (Kim & Despotovic, 2019). Υπάρχουν στοιχεία ότι τα DNT κύτταρα μπορεί να προκαλέσουν διαταραχή της δραστηριότητας των B-κυττάρων και επακόλουθη αυτοανοσία. Στα κριτήρια της νόσου ενσωματώνονται και άλλοι βιοδείκτες, όπως αύξηση sFASL, IgG, IL-10, βιταμίνης B12 και IL-18, οι οποίοι μπορούν να προβλέψουν τη νόσο με πιθανότητα 85-97% (Price, 2013). Η παθολογική δοκιμασία της Fas – επαγόμενη απόπτωσης υποστηρίζει τη διάγνωση αλλά δεν αποτελεί μέρος των επίσημων διαγνωστικών κριτηρίων (Kim & Despotovic, 2019).

Η διάγνωση του ALPS πριν την έναρξη οποιασδήποτε θεραπείας είναι σημαντική, καθώς το rituximab, όπως και η σπληνεκτομή, αντενδείκνυται (Jaime-Perez, et al., 2018). Στην πρώτη περίπτωση ο πληθυσμός των B – κυττάρων μπορεί να μην ανακάμψει ποτέ και να χρειαστεί ισόβια χορήγηση γ-σφαιρίνης, ενώ στη δεύτερη ο κίνδυνος πνευμονιοκοκκικής σήψης είναι δραματικά αυξημένος. Στη χρόνια πορεία της νόσου, οι υποτροπές αντιμετωπίζονται συνήθως με κορτικοστεροειδή, ενώ η γ-σφαιρίνη δεν φαίνεται αποτελεσματική σε ασθενείς με ALPS. Ως καταλληλότερη πρώτη γραμμής θεραπεία θεωρείται πλέον ο αναστολέας mTOR (mammalian target of rapamycin), sirolimus. Η ανταπόκριση στη θεραπεία εκτιμάται από την αποκατάσταση των κυτταροπενιών, τη μείωση των DNT, αλλά και την υποχώρηση της λεμφαδενοπάθειας και της σπληνομεγαλίας (Rotz, et al., 2018). Το mycophenolate mofetil, το οποίο αναστέλλει τη σύνθεση πουρινών, αποτελεί ακόμα μία θεραπευτική επιλογή, δε φαίνεται ωστόσο να έχει επίδραση στον αριθμό των DNT και τη λεμφοϋπερπλασία (Price, 2013). Τόσο το sirolimus όσο και το mycophenolate mofetil επιδρούν στην κυτταρική ανοσία, στοχεύοντας ειδικά στα T- και B-κύτταρα (Kim & Despotovic, 2019).

Κοινή ποικίλη ανοσοανεπάρκεια (Common variable immune deficiency – CVID)

Η CVID ανήκει στις πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες και αποτελεί, ιστορικά, διάγνωση εξ αποκλεισμού, με σημαντική φαινοτυπική ετερογένεια. Διαγιγνώσκεται με συχνότητα 1 ανά 50000 πληθυσμό, αποτελώντας την πιο συχνή πρωτοπαθή ανοσοανεπάρκεια (Wang & Cunningham-Rindles, 2005). Χαρακτηρίζεται από διαταραχή της χυμικής ανοσίας και μειωμένη παραγωγή αντισωμάτων (Feuille, et al., 2018). Αποτέλεσμα αυτών είναι χαμηλά επίπεδα ανοσοσφαιρινών στον ορό του αίματος, σε συνδυασμό με ανεπαρκή ανοσιακή απόκριση στους εμβολιασμούς. Οι ασθενείς εμφανίζουν ευπάθεια σε λοιμώξεις, εκδηλώσεις αυτοανοσίας και αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης νεοπλασιών στην ενήλικη ζωή (Rotz, et al., 2018). Μετά την προφυλακτική χορήγηση γ-σφαιρίνης, μη λοιμώδεις επιπλοκές έχουν γίνει κύριες αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας στους ασθενείς αυτούς. Σε αυτές περιλαμβάνονται η εντεροπάθεια, η χρόνια πνευμονική νόσος, η ηπατική νόσος, η λεμφουπερπλασία, το λέμφωμα και οι κυτταροπενίες (Feuille, et al., 2018).

Περίπου 20-22% των ασθενών με CVID θα αναπτύξουν αυτοάνοσο νόσημα (Seve, et al., 2008) (Michel, 2011). Σύμφωνα με καταγραφή 990 ασθενών με CVID στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής και τον Καναδά, άνοση κυτταροπενία εμφάνισε το 10,2% αυτών (Feuille, et al., 2018). Διαφορετικές μελέτες ασθενών με CVID καταγράφουν ποσοστό 2-5% wAIHA, η οποία μπορεί να αποτελεί πολλές φορές την πρώτη εκδήλωση της νόσου (Jäger, et al., 2020). Επιπλέον, η νόσος φαίνεται να σχετίζεται ισχυρά με το σύνδρομο Evans και υπολογίζεται ότι το 10% των ασθενών με σύνδρομο Evans πάσχουν από CVID (Kim & Despotovic, 2019). Οι ασθενείς που παρουσιάζουν AAA έχουν ιδιαίτερο φαινότυπο, με μικρότερη ευπάθεια σε λοιμώξεις αλλά μεγαλύτερη συχνότητα αυτοάνοσων εκδηλώσεων, σπληνομεγαλίας και ανάπτυξης λεμφώματος (Seve, et al., 2008). Από τη άλλη, η CVID παρουσιάζει κλινική και εργαστηριακή αλληλοεπικάλυψη με το ALPS και 5-10% των ασθενών με CVID μπορεί να πάσχουν από ALPS (Price, 2013).

Οι περισσότεροι ασθενείς με CVID που λαμβάνουν θεραπεία για AAA, επιτυγχάνουν ανταπόκριση με κορτικοστεοειδή. Λόγω, ωστόσο, της ευπάθειας σε λοιμώξεις πρέπει σύντομα να αναγνωρίζεται η ελάχιστη αποτελεσματική δόση και να αποφεύγεται η μακροχρόνια θεραπεία με κορτικοστεροειδή. Ασθενείς με ανθεκτική κυτταροπενία ή υποτροπές μπορούν να λάβουν rituximab, με ποσοστό ανταπόκρισης έως 80%, και σε αποτυχία άλλη ανοσοκατασταλτική αγωγή. Η εφαρμογή

οποιασδήποτε θεραπείας πρέπει να συνοδεύεται από χορήγηση γ-σφαιρίνης. Η σπληνεκτομή συστήνεται να αποφεύγεται, όπου είναι δυνατόν (Jäger, et al., 2020).

Συστηματικός ερυθματώδης λύκος (*Systematic lupus erythematosus – SLE*)

Ο SLE της παιδικής ηλικίας αποτελεί σπάνια συστηματική φλεγμονώδη αυτοάνοση νόσο, με συμμετοχή πολλών οργάνων και πιθανή εκδήλωση αιματολογικών διαταραχών (Lube, et al., 2016). Περίπου 50% των ασθενών με SLE αναπτύσσουν AAA ή/και άνοση θρομβοπενία μήνες έως χρόνια πριν την εμφάνιση εκδηλώσεων SLE (Kim & Despotovic, 2019). Θετική DAT παρουσιάζουν 18-68% των ασθενών με SLE, ενώ AAA εκδηλώνεται σε 5-10% αυτών (Hill, et al., 2017).

Οι παιδιατρικοί ασθενείς εμφανίζουν σε μεγαλύτερη συχνότητα και βαρύτητα AAA, συγκριτικά με τους ενήλικες και η AAA σχετίζεται συχνά με παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (Jäger, et al., 2020) (Gormezano, et al., 2017). Αναδρομική πολυκεντρική μελέτη 850 παιδιατρικών ασθενών με SLE στη Βραζιλία έδειξε παρουσία AAA σε 20% αυτών και συνδρόμου Evans σε ποσοστό μόλις 1,3%. Οι ασθενείς με σύνδρομο Evans εμφάνισαν σε πολύ μικρότερο ποσοστό τα κλασικά συμπτώματα του SLE, όπως εξάνθημα και εκδηλώσεις από το μυοσκελετικό, καθιστώντας τη διάγνωση της νόσου ιδιαίτερα δύσκολη (Lube, et al., 2016).

Ασθενείς με SLE μπορεί να έχουν παρόμοιο φαινότυπο με ασθενείς που πάσχουν από ALPS, με αυξημένα DNT κύτταρα (συνήθως όμως <5%), παρουσία αυτο-αντισωμάτων και παθολογική Fas - επαγόμενη απόπτωση. Μερικές φορές η διάκριση των δύο νοσολογικών καταστάσεων είναι δύσκολη και ο έλεγχος για σχετιζόμενες με ALPS μεταλλάξεις μπορεί να φανεί χρήσιμος (Price, 2013).

Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν κατευθυντήριες οδηγίες για την αντιμετώπιση της AAA σε ασθενείς με SLE. Η εμπειρία έχει δείξει ότι επιτυγχάνεται απάντηση σε χορήγηση κορτικοστεροειδών. Για την ανθεκτική ή υποτροπιάζουσα AAA, όταν δεν ακολουθείται ανοσοκατασταλτική θεραπεία για άλλες μη αιματολογικές εκδηλώσεις του SLE, μπορεί να χορηγηθεί με ασφάλεια και αποτελεσματικότητα rituximab ή εναλλακτικά mycophenolate mofetil ή αζαθειοπρίνη. Η σπληνεκτομή συστήνεται να αποφεύγεται σε ασθενείς με SLE, καθώς επιδεινώνει πιθανή προϋπάρχουσα επίκτητη ανοσοανεπάρκεια, αυξάνει τον κίνδυνο θρόμβωσης - ειδικά σε παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων – και φαίνεται να επιβαρύνει την πορεία της νόσου αποτελώντας έναυσμα για εκδήλωση αγγειίτιδας (Jäger, et al., 2020).

Γιγαντοκυτταρική Ηπατίτιδα (*Giant cell hepatitis–GCH*)

Η GCH αποτελεί ιστολογικό εύρημα κυρίως σε νεογνά με χολόσταση και θεωρείται μη ειδική αντίδραση των ανώριμων ηπατοκυττάρων σε διαφορετικά ερεθίσματα (Maggiore, et al., 2011) (Hill, et al., 2017). Στην περίπτωση που συνδυάζεται με AAA, πρόκειται για σπάνια προοδευτική διαταραχή της βρεφικής και πρώτης παιδικής ηλικίας, η οποία μπορεί να έχει θανατηφόρα έκβαση. Η αιτία της νόσου παραμένει άγνωστη, υποστηρίζεται ωστόσο η ανοσολογική αρχή της (Nastasio, et al., 2018).

Οι ασθενείς εκδηλώνουν το πρώτο έτος ζωής ίκτερο και ηπατίτιδα, με συνοδό αναιμία και θετική DAT, ενώ το ένα τρίτο των ασθενών εμφανίζουν πρώτα AAA. Σε αντίθεση με την αυτοάνοση ηπατίτιδα, ειδικά αυτοαντισώματα σπάνια ανιχνεύονται και η διάγνωση τίθεται με ανάδειξη γιγάντιων πολυπύρηνων ηπατοκυττάρων στη βιοψία ήπατος (Bakula, et al., 2014).

Η AAA που συνοδεύει GCH είναι συνήθως σοβαρή και ανθεκτική στη θεραπεία (Maggiore, et al., 2011). Εκτός της περίπτωσης οξείας ηπατικής ανεπάρκειας που απαιτεί ηπατική μεταμόσχευση, η θεραπεία της νόσου περιλαμβάνει την ανοσοκατασταλτική θεραπεία με κορτικοστεροειδή και αζαθειοπρίνη. Η παρατεταμένη ύφεση, ωστόσο, είναι σπάνια (Hill, et al., 2017). Μελέτες σε μικρές σειρές ασθενών έδειξαν ανεπαρκή ανταπόκριση σε κορτικοστεροειδή, γ-σφαιρίνη, καθώς και αζαθειοπρίνη, κυκλοσπορίνη, μερκαπτοπουρίνη και mycophenolate mofetil. Το rituximab, από την άλλη, αποδείχθηκε ασφαλές και αποτελεσματικό και συστήνεται στην αντιμετώπιση της νόσου, σε αποτυχία της πρεδνιζολόνης και της αζαθειοπρίνης.

Η νόσος απαιτεί άμεση αντιμετώπιση και η ίαση αναμένεται μετά από χρόνια εντατικής θεραπείας (Maggiore, et al., 2011). Η κακή πρόγνωση της νόσου στηρίζεται στην ανθεκτικότητα της στην ανοσοκατασταλτική θεραπεία, τις σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες της θεραπείας, τον υψηλό κίνδυνο υποτροπών, συμπεριλαμβανομένης και της επανεμφάνισης της μετά από ηπατική μεταμόσχευση. (Bakula, et al., 2014).

Σύνδρομο *Wiskott-Aldrich* (*Wiskott-Aldrich syndrome – WAS*)

Το WAS αποτελεί φυλοσύνδετη πρωτοπαθή ανοσοανεπάρκεια, η οποία χαρακτηρίζεται από την κλινική τριάδα ανοσοανεπάρκεια, θρομβοπενία και έκζεμα. Ορισμένοι ασθενείς εκφράζουν τον πλήρη φαινότυπο, ενώ άλλοι παρουσιάζουν ηπιότερες εκδηλώσεις και επιβιώνουν μέχρι την ενήλικη ζωή. Ο κλινικός φαινότυπος του ασθενούς μπορεί να μεταβάλλεται στην πάροδο του χρόνου.

Γαλλική μελέτη 55 ασθενών με WAS, που αφορούσε στην περίοδο 1980- 2000, κατέγραψε παρουσία αυτοανοσίας στο 72% αυτών και, ειδικότερα, AAA σε ποσοστό 36%, η οποία εκδηλώθηκε κυρίως τα πρώτα 5 έτη ζωής. Όλοι οι ασθενείς με AAA – πλην ενός που κατέληξε- αφού αρχικά έλαβαν κορτικοστεροειδή ή/και ανοσοκατασταλτική θεραπεία, υπεβλήθησαν σε αλλογενή μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων. Η AAA χαρακτηρίστηκε, όπως και σε παλαιότερες μελέτες, ως συχνή, πρώιμα εμφανιζόμενη επιπλοκή, η οποία κατατάσσεται σαφώς στους δυσμενείς προγνωστικούς παράγοντες του WAS (Dupuis-Girod, et al., 2003).

Ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου

AAA περιγράφεται σε 0,5-0,7% ασθενών με ελκώδη κολίτιδα, ενώ εμφανίζεται πολύ σπανιότερα σε νόσο Crohn. Συνοδεύει σχεδόν πάντα ενεργό κολίτιδα και ο έλεγχος της κολίτιδας είναι πρωτεύουσας σημασίας. Πιθανή CMV λοίμωξη με ακόλουθη AAA πρέπει να αποκλείεται πάντοτε σε τέτοιες περιπτώσεις. Θεραπεία μόνο με κορτικοστεροειδή δεν επιτυγχάνει συνήθως ύφεση των δύο καταστάσεων και απαιτείται ανοσοκατασταλτική θεραπεία, όπως κυκλοσπορίνη ή infliximab. Έλεγχος τόσο της κολίτιδας όσο και της AAA επιτυγχάνεται με κολεκτομή, με ή χωρίς σπληνεκτομή. Μεμονωμένη σπληνεκτομή φαίνεται να ελέγχει την AAA, όχι όμως και την κολίτιδα, ενώ η πιθανότητα υποτροπής παραμένει. Τέλος, εάν η ενεργός κολίτιδα έχει αποκλεισθεί, η AAA αντιμετωπίζεται ως πρωτοπαθής (Hill, et al., 2017).

Νεοπλασίες

Η AAA μπορεί να προηγείται non Hodgkin λεμφώματος ή να ακολουθεί τη διάγνωση του. Συνολικά περιγράφεται σε ποσοστό 2-3% των ασθενών, αλλά μπορεί να φτάσει το 13-19% σε λεμφώματα T-κυττάρων. Επιπλέον, ασθενείς με λέμφωμα Hodgkin εμφανίζουν AAA σε ποσοστό 0,2%. Σε αυτή την περίπτωση, η αντιμετώπιση της AAA αφορά πρωτίστως στη θεραπεία της υποκείμενης νόσου. Η εκδήλωση AAA κατά την περίοδο ύφεσης του λεμφώματος Hodgkin πρέπει να εγείρει υποψία υποτροπής της νόσου. Αν δεν επιβεβαιωθεί υποτροπή, η AAA αντιμετωπίζεται ως πρωτοπαθής.

Το 1-2% των περιπτώσεων AAA σχετίζονται με κακοήθεις όγκους συμπαγών οργάνων, με ποικιλία πρωτοπαθούς εντόπισης και ιστολογίας. Η AAA μπορεί να είναι ανθεκτική σε κορτικοστεροειδή, ενώ απαντά στην εκτομή όγκων ωοθηκών, νεφρών ή

παχέος εντέρου αλλά και στη χημειοθεραπεία σεμινώματος. Σε μεταστατικούς όγκους η AAA ελέγχεται με κορτικοστεροειδή.

Τέλος, στους καλοήθεις συμπαγείς όγκους που έχουν συσχετισθεί συχνότερα με AAA κατατάσσονται το ωθηκικό τερατώμα και το θύμωμα, αλλά και άλλοι καλοήθεις ωθηκικοί όγκοι και μη ωθηκικά τερατώματα (Hill, et al., 2017).

Μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων και συμπαγών οργάνων

Η ανοσοεπαγώμενη αιμόλυση μπορεί να εκδηλωθεί ως επιπλοκή στο 10-15% των μεταμοσχεύσεων συμπαγών οργάνων, κυρίως όταν ο δότης έχει ομάδα αίματος 0 και ο δέκτης A (Barcellini, 2015). Το φαινόμενο οφείλεται στην παραγωγή αντισωμάτων από τα παθητικά μεταφερόμενα λεμφοκύτταρα του δότη. Η αιμόλυση εμφανίζεται 2 εβδομάδες μετά τη μεταμόσχευση, μπορεί να είναι σοβαρή, ενώ γενικά είναι παροδική και σταματά όταν εξαφανισθούν τα λεμφοκύτταρα του δότη (Barcellini, et al., 2020). Από την άλλη, η AAA αφορά συχνότερα τους παιδιατρικούς ασθενείς που υποβάλλονται σε μεταμόσχευση ήπατος, εντέρου ή παγκρέατος και, σε αντίθεση με την αλλοάνοση αιμόλυση, εμφανίζεται μήνες ή και χρόνια μετά τη μεταμόσχευση. Έναυσμα της νόσου μπορεί να είναι λοίμωξη από CMV, παρβοϊο ή EBV- σχετιζόμενη μετα-μεταμοσχευτική λεμφοϋπερπλαστική νόσος. Η αντιμετώπιση της περιλαμβάνει, εκτός από τη θεραπεία πιθανής υποκείμενης λοίμωξης, κορτικοστεροειδή ή rituximab σε ανθεκτικές περιπτώσεις (Hill, et al., 2017).

Περισσότερο επείγουσα κατάσταση αποτελεί η AAA μετά από αλλογενή μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (HSCT). Αφορά έως 2-4% των μεταμοσχεύσεων και παρουσιάζει φτωχή ανταπόκριση στη θεραπεία, με σημαντική θνητότητα. Πρόκειται για απώτερη επιπλοκή που εμφανίζεται, κατά κύριο λόγο, το πρώτο έτος μετά τη μεταμόσχευση, αλλά και αργότερα. Η αιτία της δεν έχει αποσαφηνισθεί πλήρως. Παράγοντες κινδύνου εκδήλωσης AAA αποτελούν η χρησιμοποίηση μη συγγενούς δότη ή ομφαλοπλακουντιακού αίματος, η νόσος μοσχεύματος εναντίον ξενιστή, η ηλικία <15 ετών, η επανενεργοποίηση CMV λοίμωξης, η χορήγηση alemtuzumab και οι καλοήθεις καταστάσεις πριν την HSCT (Barcellini, et al., 2020). Η υψηλότερη επίπτωση AAA σε HSCT για καλοήθεις καταστάσεις πιθανόν να σχετίζεται με το σχεδόν ακέραιο ανοσιακό σύστημα των ασθενών προ μεταμόσχευσης, καθώς δεν έχουν λάβει κυτταροτοξική ή ανοσοκατασταλτική θεραπεία. Τέλος, η διαταραχή της T-κυτταρικής ανοσίας μετά χορήγηση αναστολέων καλσινευρίνης, όπως tacrolimus, μετά τη μεταμόσχευση

ενοχοποιείται επίσης για εμφάνιση AAA. Οι περισσότεροι ασθενείς χρήζουν αντιμετώπισης με γ-σφαιρίνη, κορτικοστεροειδή και συχνές μεταγγίσεις συμπυκνωμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων. Σε ανθεκτικές περιπτώσεις χορηγείται ανοσοκατασταλτική θεραπεία δεύτερης γραμμής, κυρίως rituximab, ενώ περιγράφονται περιστατικά που ανταποκρίθηκαν μετά σπληνεκτομή ή δεύτερη HSCT (Ahmed, et al., 2015).

2. ΣΚΟΠΟΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματική εργασίας είναι η αναδρομική μελέτη ιατρικών φακέλων παιδιατρικών ασθενών που διεγνώσθησαν με AAA σε παιδο-αιματολογικό Κέντρο της Βορείου Ελλάδος. Η μελέτη περιλαμβάνει την καταγραφή κλινικών και εργαστηριακών στοιχείων των ασθενών αναφορικά με την εμφάνιση της AAA, είτε ως πρωτοπαθούς νοσήματος είτε ως δευτεροπαθούς στα πλαίσια υποκείμενων καταστάσεων. Επιπλέον, μελετώνται δεδομένα σχετικά με την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της εκάστοτε χορηγούμενης θεραπείας, τόσο κατά το χρόνο της διάγνωσης όσο και κατά τη διάρκεια παρακολούθησης των ασθενών.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΕΡΕΥΝΑΣ

Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελείται από 35 παιδιά και εφήβους, ηλικίας 0-18 ετών, τα οποία διεγνώσθησαν ή παραπέμφθηκαν για παρακολούθηση με διάγνωση AAA σε Παιδο-αιματολογικό τμήμα Παιδιατρικής Κλινικής της Βορείου Ελλάδας από το 2002 μέχρι το 2020. Η διάγνωση της AAA βασίζεται στην παρουσία αιμοσφαιρίνης (Hb) χαμηλότερης από τη φυσιολογική για την ηλικία και το φύλο του ασθενούς με ταυτόχρονη θετική DAT και παθολογικά αυξημένα επίπεδα σε τουλάχιστον έναν από τους δείκτες αιμόλυσης (δικτυοερυθροκύτταρα, γαλακτική δεϋδρογονάση, χολερυθρίνη). Μελετώνται επίσης ασθενείς με θετική DAT και αντιρροπούμενη αιμόλυση, χωρίς την παρουσία αναιμίας.

Όσον αφορά στην χρονική στιγμή της διάγνωσης, η συλλογή των στοιχείων περιλαμβάνει την ηλικία, το φύλο, τα συμπτώματα, την παρουσία σπληνομεγαλίας και τα παρακάτω εργαστηριακά ευρήματα: αιμοσφαιρίνη, δικτυοερυθροκύτταρα (ΔΕΚ), γαλακτική δεϋδρογονάση (LDH) (φυσιολογική τιμή <248U/L), ολική και έμμεση

χολερυθρίνη, ουρικό οξύ (φυσιολογική τιμή 3,5-7,2mg/dl), DAT, IAT, ανοσοσφαιρίνες, παράγοντες συμπληρώματος C3, C4 και αυτο-αντισώματα ANA, DNA.

Επιπλέον καταγράφονται το αρχικό θεραπευτικό σχήμα και ανταπόκριση σε αυτό (πλήρης ανταπόκριση, μερική ανταπόκριση ή απουσία ανταπόκρισης), η διάρκεια ύφεσης, τα επεισόδια υποτροπών, η θεραπεία και η ανταπόκριση σε κάθε επεισόδιο, το χρονικό διάστημα συνολικής παρακολούθησης, οι ανεπιθύμητες ενέργειες της χορηγούμενης θεραπείας, καθώς η διάγνωση υποστρώματος κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης.

Ως πλήρης ανταπόκριση ορίζεται η αποκατάσταση της τιμής Hb για το φύλο και την ηλικία του ασθενούς, του αριθμού ΔΕΚ και της χολερυθρίνης, ως μερική ανταπόκριση η άνοδος της τιμής της Hb κατά >2g/dl αλλά παραμονή σε χαμηλότερα από τα φυσιολογικά επίπεδα ενώ απουσία ανταπόκρισης ορίζεται η αποτυχία ανόδου της τιμής Hb ή άνοδος κατά <2g/dl. Τέλος, η παρουσία πλήρους ανταπόκρισης για τουλάχιστον 12 μήνες ορίζεται συνεχής πλήρης ανταπόκριση (continuous complete response-CCR), ενώ η επανεμφάνιση αναιμίας μετά από πλήρη ή μερική ανταπόκριση αποτελεί υποτροπή της νόσου.

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με SPSS 23 και Kendall stau_b correlation. Τα αποτελέσματα θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικά σε παρουσία P <0,05.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τους 35 παιδιατρικούς ασθενείς με διάγνωση AAA, 17 (48,6%) ήταν άρρενες και 18 (51,4%) θήλειες. Η μέση ηλικία διάγνωσης ήταν τα 5,5 έτη (εύρος 4 μήνες - 15 έτη), με εκδήλωση στις ηλικίες ομάδες <1 έτους, 1-2, 9 τη, 3-4,9 έτη, 5-9,9 έτη και 10-18 έτη σε 5 (14,3%), 8 (22%), 6 (18%), 9 (25,7%), 7 (20%) ασθενείς, αντίστοιχα. Ο μέσος χρόνος παρακολούθησης ήταν 5,1 έτη (εύρος 6 μήνες – 15 έτη). Συγγένεια καταγράφηκε σε 3/35 (8,6%) ασθενείς. Οι 22/35 (63%) εμφάνισαν ένα μοναδικό επεισόδιο AAA, ενώ οι υπόλοιποι 13 (39%) παρουσίασαν περισσότερα τους ενός επεισόδια, με κατά μέσο όρο 3,3 (εύρος 1-11) υποτροπές και μέσο μεσοδιάστημα μεταξύ των υποτροπών 9,1 μήνες (εύρος 1-31 μήνες). Η παρουσία υποτροπής παρουσίασε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση με την ηλικία των ασθενών (P= 0,04).

Η κλινική εικόνα κατά τη χρονική στιγμή της διάγνωσης περιελάμβανε εμπύρετη λοίμωξη σε 12 (34,3%) ασθενείς, αιφνίδια εμφάνιση σημείων αναιμίας με ωχρότητα ή/και ίκτερο σε 15 (42,8%), σπληνομεγαλία σε 11 (31,4%) και υπέρχρωση ούρων σε 5 (14,3%). Επιπλέον, 8/35 (22,8%) ασθενείς παρουσίασαν ήπιες αιμορραγικές εκδηλώσεις (εκχυμώσεις, πετέχειες ή/και ουλορραγία), ο εργαστηριακός έλεγχος ανέδειξε θρομβοπενία επιπλέον της αναιμίας, και στους ασθενείς τέθηκε, τελικά, διάγνωση συνδρόμου Evans. Επιπλέον, διάγνωση συνδρόμου Evans τέθηκε σε 4 (11,4%) ασθενείς με γνωστό ιστορικό άνοσης θρομβοπενίας στους οποίους διαπιστώθηκε παρουσία θετικής DAT χωρίς συνοδό παρουσία αναιμίας.

Κατά την αρχική διάγνωση, το σύνολο των ασθενών εμφάνιζε θετική DAT. Σε 18 (51,4%) ασθενείς η δοκιμασία εκτιμήθηκε ως μετρίως (1-2 σταυρούς) θετική και σε 17 (48,6%) ως εντόνως (3-4 σταυρούς) θετική. Ο βαθμός θετικότητας της DAT εμφάνισε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την παρουσία υποτροπής ($P = 0,02$). Η δοκιμασία με μονοειδικό ορό ανέδειξε θετικά IgG σε 17 (48,6%) ασθενείς, IgG και C3 σε 11 (31,4%) και C3 σε 7 (20%). Κλινικά σημαντικές ψυχροσυγκολλητίνες δεν παρατηρήθηκαν. Βάση των παραπάνω κλινικοεργαστηριακών ευρημάτων 28 (80%) ασθενείς εμφάνισαν AAA θερμού τύπου και 7 (20%) ασθενείς παροξυντική ψυχρή αιμοσφαιρινουρία. Κανένας ασθενής από τους ασθενείς δεν είχε ιστορικό λήψης αντιβιοτικών ή άλλων φαρμάκων που ενέχονται στην εκδήλωση AAA.

Στους 31 ασθενείς που παρουσίασαν αναιμία παράλληλα με θετική DAT, η μέση τιμή Hb ήταν 7,7g/dl (εύρος 3,1-11 g/dl). Πολύ σοβαρή αναιμία με Hb <6g/dl διαπιστώθηκε σε 10 (32,2%) ασθενείς, Hb 6-8g/dl σε 5 (16,1%) και Hb >8g/dl σε 16 (51,7%). Όσον αφορά στους δείκτες αιμόλυσης, η μέση τιμή ολικής και έμμεσης χολερυθρίνης ήταν 3 mg/dl (εύρος 0,3-13,2 mg/dl) και 2,4 mg/dl (εύρος 0,13-7,5 mg/dl) αντίστοιχα, LDH 630 U/L (εύρος 178-1990 U/L) και δικτυοερυθροκυττάρων 7% (εύρος 0,2-36,5%). Η μέση τιμή ουρικού οξέος ήταν 4,6 mg/dl (εύρος 2,2-7,1 mg/dl). Δικτυοερυθροπενία παρουσίασαν συνολικά 13 (41,9%) ασθενείς. Συνολικά, παθολογικά αυξημένα επίπεδα ολικής χολερυθρίνης και LDH παρουσίασαν 16 (51,6%) και 23 (74,2%) ασθενείς αντίστοιχα, ενώ κανένας ασθενής δεν εμφάνισε αυξημένες τιμές ουρικού οξέος. Θετική IAT διαπιστώθηκε σε 12 (38,7%) ασθενείς, 6 (50%) εκ των οποίων εμφάνισαν πανσυγκόλληση. Η τιμή της αιμοσφαιρίνης κατά τη διάγνωση παρουσίασε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση με τον αριθμό των δικτυοερυθροκυττάρων ($P < 0,01$) και την τιμή LDH ($P < 0,01$). Η τιμή LDH εμφάνισε επιπλέον αρνητική συσχέτιση με την ηλικία ($P = 0,02$).

Ο έλεγχος των ανοσοσφαιρινών ήταν παθολογικός σε 15 (42,8%) ασθενείς κατά τη διάγνωση. Οι παράγοντες συμπληρώματος C3, C4 ανευρέθηκαν μειωμένοι σε 2 (5,7%) ασθενείς. Θετικά ANA είχαν 7 (20%) ασθενείς ενώ τα αυτο-αντισώματα DNA ήταν αρχικά αρνητικά στο σύνολο το ασθενών. Παρουσία λοίμωξης κατά το πρώτο επεισόδιο επιβεβαιώθηκε εργαστηριακά σε 6 (17,1%) ασθενείς (3 EBV/ 3 Parvovirus). Τέλος, ανοσοφαινότυπος περιφερικού αίματος ήταν διαθέσιμος για 30 ασθενείς και ανέδειξε φυσιολογικά ευρήματα σε 8 (26,7%) από αυτούς. Από τον έλεγχο των υπολοίπων προέκυψαν διαφορετικές διαταραχές στον αριθμό των υποπληθυσμών των λεμφοκυττάρων όπως αναγράφονται στον Πίνακα 3.

Η παρουσία υποστρώματος ήταν γνωστή κατά το πρώτο επεισόδιο AAA σε 3 (8,6%) ασθενείς. Επιπλέον, σε 6 (17,1%) ασθενείς τέθηκε διάγνωση μεταλοιμώδους AAA ενώ στους υπόλοιπους 26 (74,3%) τέθηκε αρχικά η διάγνωση πρωτοπαθούς AAA. Συγκεκριμένα, 2 (5,7%) μικροί ασθενείς είχαν λάβει διάγνωση γιγαντοκυτταρικής ηπατίτιδας και ένας (2,8%) συνδρόμου Wiskott-Aldrich πριν την εκδήλωση AAA. Στην πορεία της παρακολούθησης το ποσοστό πρωτοπαθούς AAA συρρικνώθηκε, καθώς 6 (17,1%) ασθενείς διεγνώσθησαν με αυτοάνοσο λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο, 3 εκ των οποίων ήταν αδέρφια, 1 (2,8%) με συστηματικό ερυθρηματώδη λύκο και αντιψωφολιπιδικό σύνδρομο και 1 (2,8%) με πρωτοπαθή ανοσοανεπάρκεια. Επιπλέον 5 (14,3%) ασθενείς παρουσίασαν σταθερά αποκλίσεις από τις φυσιολογικές τιμές των ανοσοσφαιρινών, τρεις εκ των οποίων εμφάνισαν κλινικά σημεία λεμφοϋπερπλασίας καθώς και μικρή αύξηση των διπλά αρνητικών T κυττάρων στον ανοσοφαινότυπο περιφερικού αίματος και βρίσκονταν υπό διερεύνηση για συνδρόμου πρωτοπαθούς ανοσοανεπάρκειας. Κανένας από τους ασθενείς δε διεγνώσθη με νεοπλασία. Συνολικά 11 (31,4%) παιδιά διεγνώσθησαν τελικά με δευτεροπαθή AAA, ενώ θετικά ANA κατά την πρώτη εκδήλωση δεν συνδέθηκαν σε κανέναν ασθενή με παρουσία υποστρώματος. Σε 4 από τους 6 ασθενείς (66,7%) που κατά την πρώτη εκδήλωση παρουσίασαν τεκμηριωμένη λοίμωξη, πιστοποιήθηκε υπόστρωμα ανοσολογικού νοσήματος. Η αναλογία αρρένων και θήλεων με δευτεροπαθή AAA διαμορφώθηκε σε 1,2:1 (6 άρρενες/ 5 θήλεα). Τέλος, 6/11 (54,5%) ασθενείς με δευτεροπαθή AAA παρουσίασαν υποτροπές, με μέσο όρο 4,5 υποτροπές/ασθενή, ενώ 7/24 (29,1%) ασθενείς με πρωτοπαθή AAA παρουσίασαν υποτροπές, με μέσο όρο 1,9 υποτροπές/ασθενή. Η παρουσία δευτεροπαθούς AAA εμφάνισε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την παρουσία υποτροπής (P <0,01).

Από τους παραπάνω ασθενείς, 7 (20%) δεν έλαβαν καμία θεραπεία κατά τη διάγνωση, 20 (57,1%) έλαβαν συνδυαστική αγωγή γ-σφαιρίνης και κορτικοστεροειδών (ενδοφλέβια ώσεις μεθυλπρεδνιζολόνης και εν συνεχεία από του στόματος πρεδνιζολόνη), ενώ 7/20 (20%) έλαβαν επιπλέον μετάγγιση συμπυκνωμένων ερυθρών. Μόνο κορτικοστεοειδή έλαβαν 4 (11,4%), μόνο γ-σφαιρίνη 2 (5,7%) ασθενείς, ενώ 2 (5,7%) ακόμη ασθενείς έλαβαν εξ αρχής κορτικοστεοειδή μαζί με δεύτερης γραμμής θεραπεία κατά την εκδήλωση AAA, λόγω γνωστού υποστρώματος γιγαντοκυτταρικής ηπατίτιδας στον έναν και χρόνιας άνοσης θρομβοπενίας στον άλλο (αζαθειοπρίνη και κυκλοσπορίνη αντίστοιχα).

Πλήρη ανταπόκριση μετά πρώτης γραμμής θεραπεία επέδειξαν 24 από τους 26 (92,3%) ασθενείς. Μερική ανταπόκριση ή απουσία ανταπόκρισης παρατηρήθηκε σε 2 (7,7%) παιδιά. Ένα εξ αυτών έλαβε αζαθειοπρίνη και λόγω μερικής ανταπόκρισης ακολούθησε χορηγηση rituximab, ενώ ο δεύτερος έλαβε κυκλοσπορίνη και εν συνεχεία, υποστήριξη με ερυθροποιητίνη μέχρι την πλήρη ανταπόκριση. Τελικά, 22 από τους 35 (62,8%) εμφάνισαν συνεχή πλήρη ανταπόκριση μετά την πρώτη εκδήλωση AAA.

Από τους 13 ασθενείς (37,1%) που παρουσίασαν πρώτη υποτροπή της νόσου, επαναχορήγηση συνδυαστικής θεραπείας με κορτικοστεροειδή και γ-σφαιρίνη πραγματοποιήθηκε σε 10 (76,9%) ασθενείς, δύο από τους οποίους έλαβαν ταυτόχρονα υποστηρικτική μετάγγιση συμπυκνωμένων ερυθροκυττάρων. Κατά την πρώτη υποτροπή, θεραπεία δεύτερης γραμμής έλαβαν 3 (23,1%) ασθενείς (2 κυκλοσπορίνη/ 1 rituximab). Συνολικά 10/35 (28,6%) ασθενείς έλαβαν ποικιλία θεραπευτικών σχημάτων λόγω πολλαπλών υποτροπών. Συνηθέστερη χορηγούμενη θεραπεία δεύτερης γραμμής ήταν η κυκλοσπορίνη (9/10, 90%), ακολουθεί το rituximab (3/10, 30%) και η αζαθειοπρίνη (2/10, 20%) ενώ ένας ασθενής (10%) έλαβε βινκριστίνη, ένας κυκλοφωσφαμίδη και άλλος ένας (10%) sirolimus. Η χορήγηση αζαθειοπρίνης αφορούσε ασθενείς με γιγαντοκυτταρική ηπατίτιδα και έλαβαν μακροχρόνια την αγωγή σύμφωνα με την ηπατική ανταπόκριση. Κατά τα άλλα, η θεραπεία δεύτερης γραμμής χορηγήθηκε για 2-12 μήνες, με εξαίρεση μικρό ασθενή που συνεχίζει αγωγή με sirolimus κατά το τέλος της μελέτης και λαμβάνει την αγωγή ήδη για διάστημα 30 μηνών. Επιπλέον, 2 (20%) ασθενείς υπεβλήθησαν σε σπληνεκτομή. (Πίνακας 4.)

Κατά τέλος της παρακολούθησης όλοι οι ασθενείς ήταν εν ζωή. Συνεχή πλήρη ανταπόκριση χωρίς ανάγκη αγωγής παρουσίαζαν 33/35 (94,3%) ασθενείς, ενώ οι υπόλοιποι 2 (5,7%) λάμβαναν ακόμα θεραπεία.

Συνολικά, με βάση τη στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε, το φύλο, η τιμή της αιμοσφαιρίνης κατά τη διάγνωση, ο αριθμός των δικτυοερυθροκυττάρων και η σπληνομεγαλία δεν σχετίστηκαν με πιθανότητα υποτροπής, σε αντίθεση με την ηλικία, το βαθμό θετικότητας της DAT αλλά και την παρουσία υποστρώματος.

Ανεπιθύμητες ενέργειες από την χορηγούμενη θεραπεία αναφέρθηκαν σε 3/35 (8,6%) ασθενείς. Συγκεκριμένα, αφορούν σε υπογαμμασφαιριναιμία μετά από rituximab σε έναν ασθενή, υποτροπιάζουσες ιογενείς λοιμώξεις αναπνευστικού συστήματος και χρόνια ωτίτιδα σε ασθενή υπό sirolimus, ενώ τέλος ένας ακόμα ασθενής παρουσίασε τόσο νεφροτοξικότητα μετά από κυκλοσπορίνη, όσο και νευροπάθεια από μετέπειτα χορήγηση βινκριστίνης. Στην πρώτη περίπτωση ο ασθενής ακολούθησε θεραπεία υποκατάστασης, στη δεύτερη περίπτωση έλαβε αρχικά αντιβιοτική αγωγή και στη συνέχεια χημειοπροφύλαξη χωρίς διακοπή της θεραπείας, ενώ στον τρίτο ασθενή έγινε διακοπή της εκάστοτε αγωγής με υποχώρηση των συμπτωμάτων.

Πίνακας 3. Αποτελέσματα ανοσοφαινοτύπησης λεμφοκυττάρων περιφερικού αίματος
Κφ : κατά φύσιν, Μ.δ: μη διαθέσιμο

Ασθενείς	CD4	CD8	CD4/CD8	αβTCR	γδTCR	NK	T κύτταρα	B κύτταρα
1	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ
2	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ
3	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	↑	↓
4	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ
5	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ
6	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ
7	κφ	κφ	κφ	↑	↑	κφ	κφ	κφ
8	↓	ok	↓	κφ	κφ	↓	↓	↑
9	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ
10	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ
11	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ
12	↑	κφ	κφ	κφ	κφ	↓	↑	↓
13	κφ	↓	↓	κφ	κφ	↓	↑	κφ
14	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ
15	κφ	κφ	κφ	κφ	↑	κφ	κφ	κφ
16	κφ	↓	↑	↑	κφ	κφ	κφ	κφ
17	↓	↑	↓	κφ	κφ	κφ	κφ	↓
18	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ	Μ.δ
19	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ
20	↓	κφ	κφ	κφ	↑	κφ	κφ	κφ
21	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ
22	κφ	↑	↓	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ
23	κφ	κφ	κφ	↑	↑	κφ	κφ	κφ
24	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ
25	κφ	κφ	κφ	↑	↑	κφ	κφ	κφ
26	κφ	↓	↑	↑	κφ	κφ	κφ	κφ
27	κφ	κφ	κφ	↑	κφ	κφ	κφ	κφ
28	↓	κφ	↓	↑	κφ	κφ	κφ	κφ
29	↓	κφ	↓	↑	κφ	↓	κφ	↑
30	↓	κφ	↓	↑	κφ	κφ	κφ	κφ
31	κφ	κφ	κφ	↑	κφ	κφ	κφ	↓
32	↓	κφ	↓	↑	↑	κφ	κφ	↓
33	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ
34	↓	↓	↓	↑	↑	κφ	↓	κφ
35	κφ	κφ	κφ	κφ	κφ	↑	↓	↓

Πίνακας 4. Χαρακτηριστικά ασθενών μελέτης. A/A: αριθμός ασθενή, A: άρρεν, Θ: Θήλυ, Π: πρωτοπαθής AAA, Δ: Δευτεροπαθής AAA, Hb: αιμοσφαιρίνη

A/A	Φύλο	Ηλικία σε διάγνωση (έτη)	Διάγνωση	Χρόνος παρακολούθησης (έτη)	Hb σε διάγνωση (g/dl)	Αριθμός υποτροπών	Θεραπεία 2 ^{ης} γραμμής	Συνεχής πλήρης ανταπόκριση
1	Θ	8	Π	10	7	2	ΝΑΙ	ΝΑΙ
2	Θ	0,33	Π	7	8,3	3	ΝΑΙ	ΝΑΙ
3	Θ	3,5	Π	6	8,7	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
4	Θ	2,5	Π	1	5,2	1	ΟΧΙ	ΝΑΙ
5	A	4	Π	0,5	6,4	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
6	Θ	8	Π	0,5	8,3	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
7	Θ	2	Π	4	3,7	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
8	Θ	0,5	Δ	5	3,1	4	ΝΑΙ	ΝΑΙ
9	A	0,33	Π	4	5,7	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
10	A	9	Π	8	11	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
11	Θ	3	Π	1	9,4	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
12	Θ	0,5	Δ	15	9,6	2	ΝΑΙ	ΝΑΙ
13	Θ	11	Π	6	5,9	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
14	Θ	1,5	Π	3	5,8	1	ΟΧΙ	ΝΑΙ
15	Θ	0,45	Δ	4	3,3	3	ΝΑΙ	ΝΑΙ
16	Θ	6	Π	8	9,71	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
17	A	14	Π	1	14,1	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
18	A	12,5	Π	7	9,62	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
19	Θ	7	Π	1	12,5	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
20	A	2	Π	0,5	7,6	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
21	Θ	10,5	Π	3	11	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
22	A	12	Π	4	11	4	ΝΑΙ	ΝΑΙ
23	Θ	15	Δ	3	8,2	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
24	Θ	11	Π	3	12,6	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
25	A	3	Π	10	12,5	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
26	A	6	Π	6	11	1	ΝΑΙ	ΝΑΙ
27	A	7	Π	7	11	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
28	A	4	Δ	12	10	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
29	A	9	Δ	7	5,9	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
30	A	2	Δ	15	5,2	2	ΝΑΙ	ΝΑΙ
31	A	1	Δ	4	10,2	11	ΝΑΙ	ΟΧΙ
32	A	8	Δ	6	6,5	5	ΝΑΙ	ΟΧΙ
33	A	2	Π	1,5	5,6	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
34	Θ	3	Δ	1	8,5	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ
35	A	2	Δ	2	6,9	0	ΟΧΙ	ΝΑΙ

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η AAA θεωρείται απρόβλεπτη νόσος, η οποία μπορεί να εξελιχθεί ταχύτατα, και απαιτεί επαγρύπνηση για την αποφυγή καθυστέρησης στην εφαρμογή στρατηγικών διάσωσης. Η κλινική εκδήλωση της νόσου ποικίλλει από ήπια έως σοβαρή, με θνητότητα που έφτανε παλαιότερα το 11%, ενώ παρουσιάζεται μειωμένη στο 4% σε πιο πρόσφατες μελέτες (Habibi, et al. 1974) (Barcellini, 2015). Συγκεκριμένα το σύνδρομο Evans, εμφανίζει σύμφωνα με γαλλική μελέτη παιδιατρικών ασθενών ποσοστό θνητότητας 10%, ενώ νεότερη δανική μελέτη υποστηρίζει θνητότητα του συνδρόμου 22 φορές μεγαλύτερη από τον γενικό παιδιατρικό πληθυσμό αλλά και αυξημένη συγκριτικά με παιδιά με AAA (Aladjidi, et al., 2011) (Mannering, et al., 2020). Ευτυχώς στην παρούσα μελέτη τα στοιχεία διαφέρουν από τα παραπάνω ως προς τη θνητότητα, με τους 35 ασθενείς που μελετήθηκαν, μεταξύ αυτών και 12 ασθενείς με σύνδρομο Evans, να βρίσκονται εν ζωή κατά το διάστημα παρακολούθησης.

Παρόμοια με προηγούμενες μελέτες, στην παρούσα μελέτη δεν προέκυψε διαφορά στην εκδήλωση της νόσου μεταξύ των δύο φύλων (Vaglio, et al. 2007) (Fan, et al., 2016) ενώ μικρή υπεροχή των αρρένων διαπιστώθηκε στη διάγνωση της δευτεροπαθούς AAA. Η επίπτωση ανευρέθηκε ελαφρώς μεγαλύτερη στη σχολική ηλικία, ενώ η μέση ηλικία διάγνωσης ποικίλλει στις διάφορες μελέτες (Rivalta, et al., 2019) (Aladjidi, et al., 2015). Η μικρότερη ηλικία διάγνωσης στην παρούσα μελέτη, συσχετίσθηκε με μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης υποτροπής.

Η συχνότερη διάγνωση αφορούσε AAA θερμού τύπου, σε ποσοστό 80%, ωστόσο ικανό ποσοστό ασθενών (20%) διεγνώσθη με PCH. Παρόλο που παρόμοιες μελέτες σε σειρές παιδιατρικών ασθενών αναφέρουν συχνότητα της PCH σε 0-5%, άλλοι συγγραφείς ανεβάζουν το ποσοστό έως 32% (Vagace, et al., 2014) (Vaglio, et al., 2007) (Barcellini & Fatizzo, 2015). Πιθανόν να υπάρχει υποδιάγνωση λόγω της καλοήθους ανεπίπλεκτης πορείας της νόσου και της δυσκολίας διενέργειας της ενδεδειγμένης δοκιμασίας που θέτει τη διάγνωση. Λόγω αδυναμίας διενέργειας δοκιμασίας Donath-Landsteiner στην περίπτωση των ασθενών της παρούσας μελέτης, η διάγνωση PCH τέθηκε εξ αποκλεισμού άλλων μορφών AAA και με βάση στοιχεία αιμοσφαιρινουρίας, θετικής DAT για C3, παροδικής φύσης συμπτωμάτων καθώς και ήπιας κλινικής πορείας χωρίς ανάγκη παρέμβασης.

Η αρχική κλινική εκδήλωση της νόσου αφορούσε βαριά αναιμία σε πάνω από το ένα τρίτο του πληθυσμού της μελέτης. Τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης κατά τη διάγνωση είναι ο μόνος αιματολογικός παράγοντας που έχει συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο υποτροπών. Συγκεκριμένα κάθε γραμμάριο μείωσης της αιμοσφαιρίνης από τα φυσιολογικά επίπεδα αυξάνει κατά 14% τον κίνδυνο υποτροπής (Jäger, et al., 2020). Από την άλλη η δικτυοερυθροπενία, ως στοιχείο ανεπαρκούς αντιρροπιστικής δραστηριότητας του μυελού των οστών, αντιπροσωπεύει ένα κακό προγνωστικό δείκτη για την έκβαση της AAA (Jäger, et al., 2020). Κατά τη διάγνωση, δικτυοερυθροπενία παρουσίασε λίγο λιγότερο από τους μισούς ασθενείς (41,9%), ποσοστό παρόμοιο με των Aladjidi και συνεργατών, οι οποίοι μάλιστα σημειώνουν ότι το εύρημα είχε μέση διάρκεια 6 ημερών και μέγιστη 70 ημερών (Aladjidi, et al., 2011). Παρόλα τα παραπάνω, η στατιστική ανάλυση της παρούσας μελέτης, δεν ανέδειξε συσχέτιση μεταξύ της τιμής αιμοσφαιρίνης και του αριθμού των δικτυοερυθροκυττάρων κατά τη διάγνωση και της μετέπειτα εμφάνισης υποτροπής. Παρατηρήθηκε ωστόσο στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ βαθμού θετικότητας DAT και εμφάνισης υποτροπής. Σε παλαιότερη μελέτη των Das και συνεργατών ο βαθμός θετικότητας της DAT είχε συσχετισθεί με σοβαρότερη νόσο (Das, et al., 2009).

Όσον αφορά στα ποσοστά πλήρους ανταπόκρισης μετά την χορήγηση πρώτης γραμμής θεραπείας, η οποία περιελάμβανε κορτικοστεροειδή με ή χωρίς γ-σφαιρίνη, ανευρέθησαν υψηλά (92,7%), ανάλογα με αυτά που περιγράφονται στη βιβλιογραφία (Yarali, et al., 2018) (Weli, et al., 2020) (Naithani, et al., 2007) (Naithani, et al., 2006). Το 39% των παιδιών παρουσίασαν υποτροπή, παρόμοια με τα ποσοστά υποτροπής των Fan και συνεργατών (Fan, et al., 2016) ενώ 28,6% του συνόλου των ασθενών έλαβαν θεραπεία δεύτερης γραμμής. Η θεραπεία 2^η γραμμής, η οποία επελέγη για τους ασθενείς περιελάμβανε διαφορετικές δραστικές ουσίες, με συχνότερη επιλογή την κυκλοσπορίνη και στηρίζονταν στην καλή κλινική εμπειρία του κέντρου με το συγκεκριμένο φάρμακο. Παρενέργειες της θεραπείας σημειώθηκαν σε 3 ασθενείς και αφορούσαν διαφορετικές δραστικές ουσίες. Αν και κατευθυντήριες οδηγίες σε εθνικό επίπεδο χωρών συστήνουν ως θεραπεία δεύτερης επιλογής το rituximab, οι σειρές ασθενών με AAA από διαφορετικά κέντρα, που περιγράφονται στη βιβλιογραφία είτε δεν κάνουν εκτενή αναφορά στην επιλεγείσα θεραπευτική προσέγγιση δεύτερης γραμμής είτε περιλαμβάνουν χρήση διαφορετικών προσεγγίσεων σε μεμονωμένους ασθενείς, γεγονός που εμποδίζει την εξαγωγή ασφαλών αποτελεσμάτων της εφαρμογής τους (Ladogana, et al., 2018) (Sankaran, et al., 2016) (Aladjidi, et al., 2015)

(Rivalta, et al., 2019) (Yarali, et al., 2018) (Barcellini, et al., 2014) (Weli, et al., 2020). Σε κάθε περίπτωση, ωστόσο, στο σύνολο τους τα διαθέσιμα φάρμακα δεύτερης γραμμής αφορούν, επί του παρόντος, χορήγηση "εκτός ενδείξεων" σε παιδιατρικούς ασθενείς με AAA σύμφωνα με το φύλλο οδηγιών τους και χρήζουν ειδικής έγκρισης. Επιπρόσθετα, δεν υπάρχουν δεδομένα ή συστάσεις σχετικά με το μέγιστο επιτρεπτό χρόνο χορήγησης των θεραπειών δεύτερης γραμμής. Στην παρούσα μελέτη, στο τέλος της παρακολούθησης τους, η πλειοψηφία (94,3%) των ασθενών παρουσίαζε μεν συνεχή πλήρη ύφεση, χωρίς ανάγκη πλέον φαρμακευτικής αγωγής, ωστόσο κάποιοι ασθενείς έχρηζαν μακροχρόνιας θεραπείας.

Είναι γνωστό, ότι η άνοση κυτταροπενία αποτελεί συχνά πρώτη εκδήλωση υποκείμενης ανοσοανεπάρκειας ή ρευματολογικού νοσήματος, ειδικά όταν εξελίσσεται σε χρόνια και ανθεκτική στη θεραπεία ή όταν συνοδεύεται από λεμφοϋπερπλασία (Rivalta, et al., 2019). Σύμφωνα με παρόμοιες μελέτες παιδιατρικών ασθενών με AAA, εκ των οποίων περίπου 33% των ασθενών αφορούν σύνδρομο Evans, η δευτεροπαθής AAA αποτέλεσε το 55-60% των περιπτώσεων (Aladjidi, et al., 2011) (Fan, et al., 2016) (Vaglio, et al., 2007). Στην παρούσα μελέτη καταγράφεται παρόμοιο ποσοστό συνδρόμου Evans (34%) αλλά μικρότερο ποσοστό δευτεροπαθούς AAA. Η πορεία της παρακολούθησης ανέδειξε επιβεβαιωμένο ανοσολογικό υπόβαθρο σε 11 (31,4%) ασθενείς ενώ άλλοι 5 είχαν υψηλή υποψία παρουσίας υποστρώματος και βρίσκονταν υπό διερεύνηση, με πιθανότητα αύξησης του ποσοστού της δευτεροπαθούς AAA έως 45,7%. Από τους παραπάνω, ένας μόνο ασθενής με σύνδρομο Evans (8,3%) διεγνώσθει με υποκείμενο νόσημα, ποσοστό παρόμοιο με την μελέτη των Aladjidi και συνεργατών σε 156 παιδιά αποκλειστικά με σύνδρομο Evans, όπου παρατηρήθηκε υποκείμενο νόσημα σε ποσοστό 10% (Aladjidi, et al., 2015). Παρ' αυτά, η πρόοδος στην γονιδιακή διάγνωση πρωτοπαθών ανοσοανεπαρκειών εκτιμάται ότι θα αυξήσει το ποσοστό των δευτεροπαθών μορφών του συνδρόμου τα επόμενα χρόνια.

Η δευτεροπαθής μορφή της νόσου συνδέεται με χειρότερη κλινική πορεία και πρόγνωση (Barcellini, 2015). Πράγματι, στην παρούσα μελέτη ανευρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της παρουσίας δευτεροπαθούς AAA και της μετέπειτα εμφάνισης υποτροπής της νόσου. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς με δευτεροπαθή AAA κατέγραψαν κατά μέσο όρο 4,5 υποτροπές ανά ασθενή, συγκριτικά με τους ασθενείς με πρωτοπαθή AAA που παρουσίασαν πολύ λιγότερα επεισόδια υποτροπής, με 1,9 υποτροπές ανά ασθενή.

Υπογραμμίζεται ότι η ορθή διάγνωση του υποστρώματος είναι μεγίστης σημασίας για την εφαρμογή της κατάλληλης θεραπείας, καθώς συγκεκριμένες ανοσοτροποποιητικές θεραπείες έχουν συνδεθεί με περισσότερες παρενέργειες στα διάφορα ανοσολογικά νοσήματα, όπως για παράδειγμα η χορήγηση rituximab επί συνδρόμου ALPS (Rivalta, et al., 2019). Τα σχετικά χαμηλά ποσοστά ασθενών που έλαβαν rituximab στην παρούσα μελέτη, μόλις 30% δηλαδή αυτών που έχρηζαν θεραπείας δεύτερης γραμμής, οφείλεται σε ένα βαθμό στο μεγάλο ποσοστό γονιδιακά επιβεβαιωμένου υποκείμενου συνδρόμου ALPS, συγκεκριμένα σε 6 από τα 11 παιδιά με δευτεροπαθή AAA (3 εκ των οποίων ήταν αδέρφια), συγκριτικά με μεγάλη γαλλική μελέτη σε σύνολο 265 παιδιών όπου το σύνδρομο εμφανίζεται μόλις στο 1,1% (Aladjidi, et al., 2011).

Από την άλλη, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δεν ανέδειξαν σε κανέναν ασθενή υπόβαθρο νεοπλασίας και συμφωνεί με τις περισσότερες αναλύσεις παιδιατρικών ασθενών με AAA, οι οποίες έρχονταν σε αντίθεση με αυτές των ενήλικων (Aladjidi, et al., 2011) (Sankaran, et al., 2016). Ωστόσο, για πρώτη φορά η μελέτη των Mannering και συνεργατών ανέδειξε σε 21 παιδιατρικούς ασθενείς με σύνδρομο Evans, 4 περιστατικά νεοπλασίας, γεγονός που επιβεβαιώνει την ανάγκη διερεύνησης και παρακολούθησης των ασθενών και προς αυτή την κατεύθυνση (Mannering, et al., 2020).

Εν κατακλείδι, η θνητότητα της νόσου παρουσιάζεται μειωμένη στις σειρές παιδιατρικών ασθενών στο πέρασμα των χρόνων αποτέλεσμα πιθανόν της διάθεσης στοχευμένων θεραπευτικών επιλογών, της πρώιμης εφαρμογής επιθετικών θεραπειών, αλλά και της επαγρύπνησης ως προς την έγκαιρη αντιμετώπιση επιπλοκών της νόσου και της θεραπείας. Επιπλέον, με την πρόοδο στον τομέα της γονιδιακής διάγνωσης ανοσολογικών νοσημάτων η ομάδα της πρωτοπαθούς AAA συρρικνώνεται, συμβάλλοντας με τη σειρά της στην καταλληλότερη διαχείριση και παρακολούθηση των ασθενών, δημιουργώντας ταυτόχρονα μικρότερες υποομάδες ασθενών που χρήζουν ειδικής διαχείρισης βάση του υποστρώματος τους. Τα δεδομένα ωστόσο, απουσία τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών, προκύπτουν από μικρές σειρές παιδιατρικών ασθενών, όπως η παρούσα μελέτη, με ποικίλα αποτελέσματα. Από την άλλη εθνικές κατευθυντήριες οδηγίες συστήνουν θεραπευτικά πρωτόκολλα, ωστόσο φείδονται δεδομένων όσον αφορά την μακροχρόνια ασφάλεια των νεότερων χορηγούμενων φαρμάκων. Η ποικιλία των διαθέσιμων πλέον φαρμάκων καθώς και η απουσία διεθνών συστάσεων έχει ως επακόλουθο την

ετερογένεια στο τρόπο αντιμετώπισης των παιδιατρικών περιστατικών AAA από τα διάφορα κέντρα, ανάλογα με την εμπειρία τους. Διεθνής πολυκεντρική καταγραφή παιδιατρικών ασθενών με AAA σχετικά με τη διαχείριση τους και τα μακροπρόθεσμα αποτελεσμάτων αυτής θα αποτελούσε σημαντικό εργαλείο στην εξαγωγή συμπερασμάτων ως προς τη βέλτιστη αντιμετώπιση του νοσήματος με στόχο την περαιτέρω μείωση της θνητότητας αλλά και τη βελτίωση της ποιότητας της ζωής των μικρών ασθενών και των οικείων τους.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα μελέτη καταγράφει ενθαρρυντικά αποτελέσματα με μηδενικό ποσοστό θνητότητας σε παιδιατρικούς ασθενείς με AAA στη διάρκεια των τελευταίων δύο δεκαετιών σε σύνολο 35 ασθενών. Επιπλέον συσχετίζει τη μικρότερη ηλικία, το βαθμό θετικότητας της DAT και την παρουσία υποστρώματος με την πιθανότητα εμφάνισης υποτροπών της νόσου. Τα αποτελέσματα της θεραπείας πρώτης γραμμής συμφωνούν με τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα, ενώ η θεραπεία 2^{ης} γραμμής περιλαμβάνει την εφαρμογή διαφορετικών προσεγγίσεων, όπως διαφορετικές παρουσιάζονται και οι προσεγγίσεις στις δημοσιευμένες σειρές ασθενών διαφορετικών κέντρων. Λόγω του μικρού δείγματος, είναι επισφαλής η εξαγωγή συμπερασμάτων, ωστόσο τα δεδομένα ασφάλειας περιέλαβαν μικρό μόνο ποσοστό παρενεργειών (8,6%) της εφαρμοζόμενης θεραπείας. Η ποικιλία κλασικών αλλά και νεότερων ανοσοτροποποιητικών φαρμάκων στην φαρέτρα των διαθέσιμων θεραπευτικών επιλογών αποτελεί από τη μία αισιόδοξη εξέλιξη για τη στοχευμένη αντιμετώπιση της AAA σε παιδιατρικούς ασθενείς, με μείωση των χορηγούμενων κορτικοστεροειδών, αλλά από την άλλη απαιτεί εξοικείωση και εμπειρία των θεραπόντων ιατρών με το εκάστοτε φάρμακο. Λαμβάνοντας ως δεδομένο ότι το νόσημα είναι σπάνιο, η συλλογή και κεντρική καταγραφή των εμπειριών των διαφορετικών κέντρων είναι σημαντική για τον πολλαπλασιασμό και τη διάδοση της αποκτούμενης γνώσης και εξοικείωσης σχετικά με την εφαρμογή των διαφορετικών θεραπευτικών προσεγγίσεων.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ahmed, I., Teruya, J., Murray-Krezan, C. & Krance, R., 2015. The incidence of autoimmune hemolytic anemia in pediatric hematopoietic stem cell recipients post first and second hematopoietic stem cell transplant. *Pediatr Transplant.*, pp. 19(4):391-8.
- Akker, M. v. d. και συν., 2020. Primary IgA-mediated Autoimmune Hemolytic Anemia in an Infant Successfully Treated With Rituximab. *J Pediatr Hematol Oncol.*, pp. 42(7):e615-e619.
- Aladjidi, N. και συν., 2015. evans syndrome in children: long-term outcome in a prospective French national observational cohort. *Front Pediatr.*, p. 3:79.
- Aladjidi, N. και συν., 2017. Reliable assessment of the incidence of childhood autoimmune hemolytic anemia. *Pediatr Blood Cancer.*, p. 64(12).
- Aladjidi, N. και συν., 2011. New insights into childhood autoimmune hemolytic anemia: a French national observational study of 265 children. *Haematologica*, pp. 96(5):655-63.
- Arndt, P. & Garraty, G., 2005. The Changing Spectrum of Drug-Induced Immune Hemolytic Anemia. *Semin Hematol.*, pp. 42(3):137-44.
- Bakula, A. και συν., 2014. Giant Cell Hepatitis With Autoimmune Hemolytic Anemia in Children: Proposal for Therapeutic Approach. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*, pp. 58(5):669-73.
- Barcellini, W., 2015. New Insights in the Pathogenesis of Autoimmune Hemolytic Anemia. *Transfus Med Hemother*, pp. 42(5):287-93.
- Barcellini, W. & Fatizzo, B., 2015. Clinical Applications of Hemolytic Markers in the Differential Diagnosis and Management of Hemolytic Anemia. *Dis Markers*, p. 2015:635670.
- Barcellini, W. και συν., 2014. Clinical heterogeneity and predictors of outcome in primary autoimmune hemolytic anemia: a GIMEMA study of 308 patients. *Blood*, pp. 124(19):2930-6.
- Barcellini, W., Zaninoni, A., Giannotta, J. A. & Fatizzo, B., 2020. New Insights in Autoimmune Hemolytic Anemia: From Pathogenesis to Therapy. *J Clin Med.*, p. 9(12):3859.
- Bass, G., Tuscano, E. & Tuscano, J., 2014. Diagnosis and classification of autoimmune hemolytic anemia. *Autoimmun Rev.*, pp. 13(4-5):560-4.

- Berentsen, S., Randen, U. & Geir, T., 2015. Cold Agglutinin-Mediated Autoimmune Hemolytic Anemia. *Hematol Oncol Clin North Am.*, pp. 29(3):455-71.
- Branstetter, C., Hankins, J., Moreau, D. & Nottage, K., 2015. Severe Autoimmune Hemolytic Anemia in an Infant Caused by Warm-reactive IGM and IGA Autoantibodies: A Case Report and Review of the Literature. *J Pediatr Hematol Oncol.*, pp. 37(6):468-71.
- Brodsky, R., 2019. Warm Autoimmune Hemolytic Anemia. *N Engl J Med.*, pp. 381(7):647-654.
- Cooling, L. & Hujan, S., 2019. Daratumumab in combination with standard treatment for autoimmune hemolytic anemia in a pediatric patient. *Transfusion*, pp. 59(12):3801-3802.
- Das, S. S., Nityanand, S. & Chaudhary, R., 2009. Clinical and serological characterization of autoimmune hemolytic anemia in a tertiary care hospital in North India. *Ann Hematol*, pp. 88(8):727-32.
- Dupuis-Girod, S. και συν., 2003. Autoimmunity in Wiskott-Aldrich Syndrome: Risk Factors, Clinical Features, and Outcome in a Single-Center Cohort of 55 Patients. *Pediatrics*, pp. 111(5 Pt 1):e622-7.
- Fan, J. και συν., 2016. Clinical Features and Treatment Outcomes of Childhood Autoimmune Hemolytic Anemia: A Retrospective Analysis of 68 Cases. *J Pediatr Hematol Oncol.*, pp. 38(2):e50-5.
- Fattizzo, B. και συν., 2019. Low-dose rituximab in autoimmune hemolytic anemia: 10 years after. *Blood*, pp. 133(9):996-998.
- Feuille, E. και συν., 2018. Autoimmune Cytopenias and Associated Conditions in COVID: a Report From the USIDNET Registry. *J Clin Immunol.*, pp. 38(1):28-34.
- Flores, G., Cunningham-Rundles, C., Newland, A. C. & Bussel, J. B., 1993. Efficacy of intravenous immunoglobulin in the treatment of autoimmune hemolytic anemia: results in 73 patients. *Am J Hematol*, pp. 44(4):237-42.
- Gormezano, N. και συν., 2017. Autoimmune hemolytic anemia in systemic lupus erythematosus at diagnosis: differences between pediatric and adult patients. *Lupus*, pp. 26(4):426-430.
- Habibi, B., Homberg, J. C., Schaison, G. & Salmon, C., 1974. Autoimmune hemolytic anemia in children. A review of 80 cases. *Am J Med.*, pp. 56(1):61-9.
- Hill, A. & Hill, Q., 2018. Autoimmune hemolytic anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.*, pp. 2018(1):382-389..

- Hill, Q. και συν., 2017. Guidelines on the management of drug-induced immune and secondary autoimmune, haemolytic anaemia. *Br J Haematol.*, pp. 177(2):208-220.
- Hill, Q. και συν., 2017. The diagnosis and management of primary autoimmune haemolytic anaemia. *Br J Haematol.*, pp. 176(3):395-411.
- Jäger, U. και συν., 2020. Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults: Recommendations of First International COnsensus Meeting. *Blood Rev.*, p. 41:100648.
- Jaime-Perez, J. C. και συν., 2018. evans syndrome: clinical perspectives, biological insights and treatment modalities. *J Blood Med.*, pp. 9:171-184.
- Jastaniah, W., Pritchard, S., Wu, J. & Wadsworth, L., 2004. Hyperuricemia and Reticulocytopenia in Association With Autoimmune Hemolytic Anemia in Two Children. *Am J Clin Pathol.*, pp. 122(6):849-54.
- Kalfa, T., 2016. Warm antibody autoimmune hemolytic anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.*, pp. 2016(1):690-697.
- Kim, T. O. & Despotovic, J., 2019. Primary and Secondary Immune Cytopenias Evaluation and Treatment Approach in Children. *Hematol Oncol Clin North Am.*, pp. 33(3):489-506.
- Ladogana, S. και συν., 2018. Second-line therapy in paediatric warm autoimmune haemolytic anaemia. Guidelines from the Associazione Italiana Onco-Ematologia Pediatrica (AIEOP). *Blood Transfus.*, pp. 16(4):352-357.
- Ladogana, S. και συν., 2017. Diagnosis and management of newly diagnosed childhood autoimmune haemolytic anaemia. Recommendations from the Red Cell Study Group of the Paediatric Haemato-Oncology Italian Association. *Blood Transfus.*, pp. 15(3):259-267..
- Li, B.-J. και συν., 2015. Retrospective analysis of 30 severe autoimmune hemolytic anemia patients treated by whole blood exchange transfusion. *Transfusion*, pp. 55(9):2231-7.
- Li, H. και συν., 2020. Sirolimus is effective for primary relapsed/refractory autoimmune cytopenia: a multicenter study. *Exp Hematol.*, pp. 89:87-95.
- Lube, G. και συν., 2016. Evans Syndrome at Childhood-Onset Systemic Lupus Erythematosus Diagnosis: A Large Multicenter Study. *Pediatr Blood Cancer*, pp. 63(7):1238-43.

- Maggiore, G. και συν., 2011. Giant Cell Hepatitis with Autoimmune Hemolytic Anemia in Early Childhood: Long-Term Outcome in 16 Children. *J Pediatr.*, pp. 159(1):127-132.
- Malpica, L. & Moll, S., 2020. Practical approach to monitoring and prevention of infectious complications associated with systemic corticosteroids, antimetabolites, cyclosporine, and cyclophosphamide in nonmalignant hematologic diseases. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.*, pp. 2020(1):319-327.
- Mannering, N., Hansen, D. L. & Frederiksen, H., 2020. Evans syndrome in children below 13 years of age - A nationwide population-based cohort study. *PLoS One.*, p. 15(4):e0231284.
- Miano, M., 2016. How I manage Evans Syndrome and AIHA cases in children. *British Journal of Hematology* , pp. 172, 524:534.
- Miano, M. και συν., 2014. Sirolimus for the treatment of multi-resistant autoimmune haemolytic anaemia in children. *Br J Haematol.*, pp. 167(4):571-4.
- Michalak, S. S. και συν., 2020. Autoimmune hemolytic anemia: current knowledge and perspectives. *Immun Ageing.*, p. 17(1):38.
- Michel, M., 2011. Classification and therapeutic approaches in autoimmune hemolytic anemia: an update. *Expert Rev Hematol*, pp. 4(6):607-18.
- Michel, M., 2014. Warm autoimmune hemolytic anemia: Advances in pathophysiology and treatment. *Presse Med.*, pp. 43(4 Pt 2):e97-e104.
- Murakhovskaya, I., 2020. Rituximab Use in Warm and Cold Autoimmune Hemolytic Anemia. *J Clin Med.*, p. 9(12):4034.
- Naithani, R. και συν., 2007. Autoimmune hemolytic anemia in children. *Pediatr Hematol Oncol.*, pp. 24(4):309-15.
- Naithani, R. και συν., 2006. Autoimmune hemolytic anemia in India: Clinico-hematological spectrum of 79 cases. *Hematology*, pp. 11(1):73-6.
- Nastasio, S., Sciveres, M. & Maggiore, G., 2018. Should Giant Cell Hepatitis With Autoimmune Hemolytic Anemia Be Considered a Pediatric Autoimmune Liver Disease?. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, p. 66(5):e137.
- Ottaviano, G. και συν., 2020. Rituximab Unveils Hypogammaglobulinemia and Immunodeficiency in Children with Autoimmune Cytopenia. *J Allergy Clin Immunol Pract.*, pp. 8(1):273-282.

- Panigrahi, A., Clark, A., Myers, J. & Raj, A., 2016. A novel immunomodulatory treatment involving mycophenolate mofetil and corticosteroids for pediatric autoimmune cytopenias. *Pediatr Blood Cancer*, pp. 64(2):287-293.
- Price, V., 2013. Auto-immune Lymphoproliferative Disorder and Other Secondary Immune Thrombocytopenias in Childhood. *Pediatr Blood Cancer*, pp. 60 Suppl 1:S12-4.
- Prince, S., Winestone, L., Nance, S. & Friedman, D., 2017. Recurrent Donath-Landsteiner hemolytic anemia: a pediatric case report. *Transfusion*, pp. 7(6):1401-1406.
- Rai, P., Sharma, G., Singh, D. & Garg, J., 2017. Rare presentation of mixed autoimmune hemolytic anemia in children: Report of 2 cases. *J Lab Physicians*, pp. 9(4):332-336.
- Reynaud, Q. και συν., 2015. Efficacy and safety of rituximab in auto-immune hemolytic anemia: A meta-analysis of 21 studies. *Autoimmun Rev.*, pp. 14(4):304-13.
- Rivalta, B. και συν., 2019. Evans Syndrome in Childhood: Long Term Follow-Up and the Evolution in Primary Immunodeficiency or Rheumatological Disease. *Front Pediatr.*, p. 7:304.
- Rotz, S., Ware, R. & Kumar, A., 2018. Diagnosis and management of chronic and refractory immune cytopenias in children, adolescents, and young adults. *Pediatr Blood Cancer*, p. 65(10):e27260.
- Sankaran, J. και συν., 2016. Autoimmune Hemolytic Anemia in Children: Mayo Clinic Experience. *J Pediatr Hematol Oncol*, pp. 38(3):e120-4.
- Seidel, M., 2020. Treatment of immune-mediated cytopenias in patients with primary immunodeficiencies and immune regulatory disorders (PIRDs). *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* ., pp. 673-679.
- Seve, P. και συν., 2008. Autoimmune Hemolytic Anemia and Common Variable Immunodeficiency. *Medicine (Baltimore)*, pp. 87(3):177-184.
- Takahashi, H. και συν., 2016. Fatal warm autoimmune hemolytic anemia in a child due to IgM-type autoantibodies. *Pediatr Int.*, pp. 58(8):744-6.
- Vagace, J. M., Bajo, R. & Gervasini, G., 2014. Diagnostic and therapeutic challenges of primary autoimmune haemolytic anaemia in children. *Arch Dis Child.*, pp. 99(7):668-73.
- Vaglio, S. και συν., 2007. Autoimmune hemolytic anemia in childhood: serologic features in 100 cases. *Trnsfusion*, pp. 47(1):50-4.

Wang, J. & Cunningham-Rindles, 2005. Treatment and outcome of autoimmune hematologic disease in common variable immunodeficiency (CVID). *J Autoimmun*, pp. 25(1):57-62.

Weli, M. και συν., 2020. Diagnosis and management of autoimmune hemolytic anemia in children. *Transfus Clin Biol.*, pp. 27(2):61-64.

Williams, O., Bhat, R. & Badawy, S., 2020. Sirolimus for treatment of refractory primary warm autoimmune hemolytic anemia in children. *Blood Cells Mol Dis.*, p. 83:102427.

Yarali, N. και συν., 2018. Clinical features and treatment of primary autoimmune hemolytic anemia in T childhood. *Transfus Apher Sci.* , pp. 57(5):665-668.