

Anemia hemolítica autoinmunitaria. Un reto diagnóstico y terapéutico

Ortiz-Guevara JR, Méndez-Torres M, García-Hernández LP, Ramírez E, González C, Villela L

Resumen

La afección conocida como anemia hemolítica autoinmunitaria es un trastorno poco común, causado por autoanticuerpos dirigidos contra hematíes propios. Se llama anemia hemolítica autoinmunitaria primaria (50%) en la ausencia de una enfermedad subyacente o secundaria cuando se relaciona con síndromes linfoproliferativos (20%), enfermedades autoinmunitarias (20%), infecciones y tumores. Las características clínicas dependen de la severidad del proceso hemolítico y de la enfermedad subyacente, como puede ser el caso de la leucemia linfocítica crónica o linfomas, que representan alrededor de la mitad de los casos de anemia hemolítica autoinmunitaria secundaria. Como primera línea de tratamiento contra la anemia hemolítica autoinmunitaria se prescriben dosis altas de corticoesteroides. En cuanto a tratamientos de segunda línea existen varias opciones; sin embargo, la esplenectomía y el rituximab son los únicos tratamientos de segunda línea con eficacia probada a corto plazo.

PALABRAS CLAVE: anemia hemolítica autoinmunitaria.

Rev Hematol Mex. 2017 October;18(4):168-176.

Autoimmune hemolytic anemia. A diagnostic and therapeutic challenge.

Ortiz-Guevara JR, Méndez-Torres M, García-Hernández LP, Ramírez E, González C, Villela L

Abstract

The condition known as autoimmune hemolytic anemia (AIHA) is an uncommon disorder caused by autoantibodies directed against self-red blood cells (RBC). It can be known as primary AIHA (50%) in the absence of an underlying disease or secondary AIHA, when it is related with lymphoproliferative syndromes (20%), autoimmune diseases (20%), infections and tumors. Clinical features depend on the severity of the hemolytic process and by the underlying diseases, such as chronic lymphocytic leukemia and lymphomas, which account for about half of all secondary AIHA cases. As the first line treatment for AIHA is high dose of steroids. For a second line treatment there are several options, although splenectomy and rituximab are the only second-line treatments with a proven short-term efficacy.

KEYWORDS: autoimmune hemolytic anemia

Servicio de Hematología y Banco de Sangre, Centro Médico Dr. Ignacio Chávez, ISSSTESON, Hermosillo, Sonora, México.

Recibido: 21 de noviembre 2017

Aceptado: 28 de noviembre 2017

Correspondencia

Dr. Luis Villela
l.villela@isssteson.gob.mx

Este artículo debe citarse como

Ortiz-Guevara JR, Méndez-Torres M, García-Hernández LP, Ramírez E y col. Anemia hemolítica autoinmunitaria. Un reto diagnóstico y terapéutico. Hematol Méx. 2017 oct;18(4):168-176.

ANTECEDENTES

La anemia hemolítica consiste en la destrucción del eritrocito a nivel intravascular o extravascular. Las anemias hemolíticas intravasculares pueden ser por anticuerpos propios del individuo contra un antígeno alógeno (reacción transfusional) o en forma rara un autoanticuerpo (anemia hemolítica de Landsteiner). Las anemias hemolíticas extravasculares son por defecto de membrana del eritrocito, por alteraciones de las cadenas de hemoglobina, por defectos enzimáticos y también por procesos autoinmunitarios.

En esta revisión nos enfocaremos principalmente a la anemia hemolítica autoinmunitaria, trastorno poco común, causado por autoanticuerpos dirigidos contra hematíes propios; tiene incidencia de 1-3 por 100,000 habitantes.¹ Se llama anemia hemolítica autoinmunitaria primaria (50%) en la ausencia de una enfermedad subyacente o secundaria cuando se relaciona con síndromes linfoproliferativos (20%), enfermedades autoinmunitarias (20%), infecciones y tumores.²

La exclusión de fármacos que induzcan hemólisis es particularmente importante, porque suspender el fármaco es la medida más efectiva en tal situación.³

Fisiopatología

Los mecanismos de la fisiopatología de la anemia hemolítica autoinmunitaria incluyen una serie de pasos complejos que implican múltiples interacciones inmunológicas. La anemia hemolítica autoinmunitaria se define como el aumento de la destrucción de hematíes en la presencia de autoanticuerpos. Estos autoanticuerpos son producidos por linfocitos B autorreactivos circulantes, en sincronía con linfocitos T cooperadores. El sistema de complemento está implicado igualmente en la patogénesis de la anemia hemolítica autoinmunitaria, que puede

inducir lisis osmótica eritrocitaria directa por medio de la activación del complejo de ataque a la membrana.

Los autoanticuerpos son capaces de destruir hematíes por un mecanismo de citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos, mediado por linfocitos T CD8 citotóxicos y linfocitos NK, al igual que macrófagos activados portadores de receptores Fc, que reconocen y fagocitan eritrocitos opsonizados por autoanticuerpos y complemento. La lisis directa por complemento ocurre principalmente en el hígado y en la circulación, mientras la fagocitosis y la destrucción de hematíes mediadas por linfocitos T CD8+ tiene lugar en el bazo y en órganos linfoides.⁴

Los anticuerpos contra hematíes más comunes son IgG, que generalmente reaccionan a 37°C y, por tanto, son responsables de las formas de anemia hemolítica autoinmunitaria por anticuerpos calientes. La anemia hemolítica autoinmunitaria por anticuerpos calientes representa 70 a 80% de todos los casos en adultos, generalmente se trata de un autoanticuerpo del isotipo IgG1.^{4,5}

En 50% de los casos se encuentran fragmentos de complemento, comúnmente C3d y usualmente en combinación con IgG. Los autoanticuerpos IgA están presentes en 15 a 20% de los pacientes y por lo general en combinación con IgG, con menos frecuencia se encuentran solos.⁶

Los autoanticuerpos IgM producen principalmente hemólisis intravascular y su temperatura óptima de reacción es 4°C, por tanto, éstos son los responsables de las formas de anemia hemolítica autoinmunitaria por anticuerpos fríos. De igual forma, la amplitud termal de los autoanticuerpos IgM va desde 0 a 34°C y los que tienen actividad termal cerca de temperaturas fisiológicas son los autoanticuerpos más perjudiciales.⁵

En la **Figura 1** se observa de manera detallada lo comentado respecto a la fisiopatología de la anemia hemolítica autoinmunitaria.

Diagnóstico

El diagnóstico preciso de la anemia hemolítica autoinmunitaria es obligatorio y para establecer el diagnóstico deben estar presentes dos principales criterios: la evidencia serológica de autoanticuerpos y la evidencia clínica o de laboratorio de hemólisis. Las manifestaciones clínicas más comunes en estos pacientes son los síntomas en relación con la anemia, como fatiga, palidez y disnea. Asimismo, principalmente en casos de anemia hemolítica autoinmunitaria secundaria se observa fiebre, dolor articular y hemorragias.⁷

Los pacientes con anemia hemolítica crónica pueden encontrarse asintomáticos y la hemólisis sólo se documenta en pruebas de laboratorio. En este escenario, deben solicitarse las siguientes

pruebas de laboratorio: biometría hemática completa, cuenta de reticulocitos, frotis de sangre periférica, prueba de Coombs directa, lactato deshidrogenasa (LDH), incremento de bilirrubina indirecta y reducción de la haptoglobina.³

Dos preguntas deben responderse: ¿Qué tipo de anticuerpo está relacionado? y ¿La anemia hemolítica autoinmunitaria es primaria o secundaria? El tipo de anticuerpos puede identificarse con el uso de anticuerpos monoespecíficos para inmunoglobulina G y C3d. Cuando los hematíes son cubiertos con IgG o IgG más C3d, generalmente se trata de anticuerpos calientes, en tanto, cuando los hematíes son cubiertos sólo con C3d, los anticuerpos fríos son los asociados más comúnmente, aunque no en la totalidad de los casos.² En la **Figura 2** se muestra el aspecto de la prueba de Coombs según el resultado positivo o negativo en gel.

La sospecha de estos anticuerpos también puede surgir por los datos clínicos. Los pacientes con anticuerpos calientes tendrán la hemólisis a temperatura ambiente, mientras que los de anticuerpos fríos, cuando las partes distales del individuo afectado lleguen a menos de 22°C. Un bajo porcentaje de pacientes pueden cursar asintomáticos.⁸

Una prueba de Coombs por sí sola no establece el diagnóstico de anemia hemolítica autoinmunitaria, aproximadamente 1 por cada 10,000 donadores de sangre sanos y 8% de los pacientes hospitalizados muestran una prueba de Coombs positiva,⁹ por tanto, una prueba de Coombs positiva debe interpretarse en asociación con las manifestaciones clínicas y la evidencia de hemólisis. De 2 a 6% de los pacientes con características clínicas sugerentes de anemia hemolítica autoinmunitaria tienen la prueba de Coombs negativa, esto se debe a la baja concentración de anticuerpos tipo IgG unidos a la membrana de los eritrocitos o a la baja

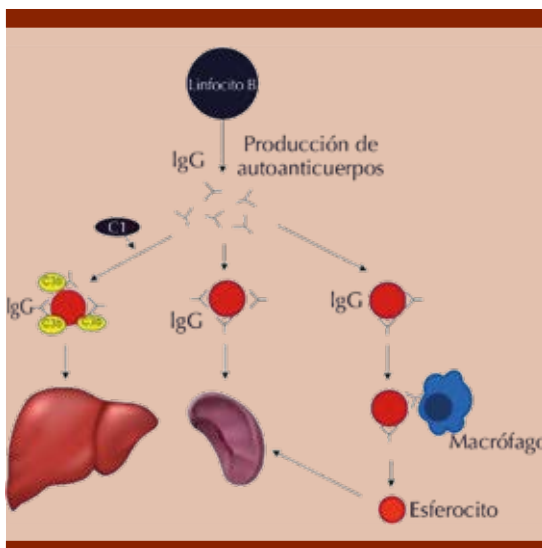


Figura 1. Mecanismos de destrucción eritrocitaria en la anemia hemolítica autoinmunitaria por anticuerpos calientes. La lisis directa por complemento ocurre principalmente en el hígado, mientras que la fagocitosis y destrucción de hematíes tienen lugar en el bazo y en órganos linfoides.

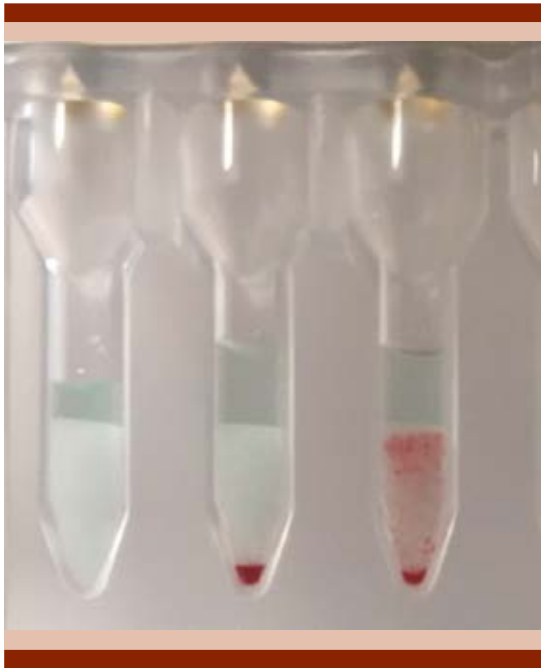


Figura 2. Prueba de Coombs. Se interpreta de acuerdo con si existe aglutinación o no. Si existe aglutinación, es decir, que se obtiene un resultado positivo, el anticuerpo específico se queda en la parte de arriba debido a que las partículas formadas por aglutinación son incapaces de atravesar los poros, presentando un patrón reticulado característico. Si no hay aglutinación, el líquido atraviesa el gel mediante unos poros y queda abajo del tubo tras la centrifugación.

afinidad de los anticuerpos que son removidos por los procedimientos de lavado de la técnica utilizada (o a ambas situaciones).¹⁰ El hallazgo de una prueba de Coombs negativa en la anemia hemolítica autoinmunitaria se asocia con diferentes causas inherentes a la realización de esta prueba, por lo que es necesario el uso de técnicas de mayor sensibilidad, como la citometría de flujo, la prueba de polibreno directa y de ELISA, para detectar los autoanticuerpos eritrocitarios causantes de la hemólisis.¹¹ Se prefiere la citometría de flujo por su mayor sensibilidad a la técnica de eluido de células rojas y porque para la realización de este último es necesario personal con mayor experiencia en la técnica.

Existen tres posibles razones para que una anemia hemolítica autoinmunitaria muestre una prueba de Coombs negativa: 1) que la detección de IgG sensibilizada se encuentre abajo del umbral de detección de la prueba comercial; 2) baja afinidad de la IgG por los lavados que se realizan durante el procedimiento y 3) sensibilización por IgA solamente, o anticuerpos IgM y no activa complemento, por lo que no se puede detectar.¹¹ Por tanto, ante la sospecha de anemia hemolítica por clínica o laboratorio y una prueba de Coombs directo negativa debe solicitarse una prueba de Coombs con gel o por citometría de flujo porque en el caso de anemia hemolítica autoinmunitaria intravascular con prueba de Coombs negativa debe descartarse anemia hemolítica por hemoglobinuria paroxística nocturna, coagulación intravascular diseminada o púrpura trombocitopénica trombótica.⁵

La citometría de flujo es un método analítico mediante el que es posible marcar cualquier molécula que sea de interés siempre que se disponga de un anticuerpo acoplado a un fluorocromo, es de gran utilidad en pacientes con anemia hemolítica autoinmunitaria. La evidencia actual muestra que la citometría de flujo es definitivamente una técnica que tiene mayor sensibilidad que la prueba de Coombs, aunque en situaciones de recursos limitados, ésta es una buena alternativa a la citometría de flujo.¹²

Anemia hemolítica de anticuerpos fríos

Los autoanticuerpos fríos de células rojas pueden fijar el complemento cuando los pacientes están expuestos a temperaturas bajas, usualmente ocurre en las extremidades del paciente, se manifiesta con acrocianosis y orina oscura (marrón) acompañada de un síndrome anémico agudo y en ocasiones ictericia.⁵

Estos anticuerpos se presentan en pacientes con infecciones bacterianas (en especial gérme-

nes atípicos como *Chlamydia* o *Mycoplasma pneumoniae*) o virales, mientras que los autoanticuerpos calientes de anemia hemolítica autoinmunitaria se desarrollan principalmente en los casos primarios o secundarios como linfomas y trastornos autoinmunitarios.⁷

La hemoglobinuria paroxística fría es un raro trastorno transitorio que afecta a pacientes pediátricos seguido de infecciones de las vías respiratorias superiores u otras infecciones. Está asociado con hemólisis intravascular severa aguda acompañada de fiebre, dolor en el abdomen, la espalda y las extremidades inferiores, además de orina oscura.⁸

Anemia hemolítica de anticuerpos calientes

En la anemia hemolítica autoinmunitaria caliente la manifestación clínica tiende a ser más variable, con un comienzo insidioso de síntomas de anemia y otros síntomas inespecíficos, como fiebre, y generalmente seguido de padecimientos crónicos subyacentes, como sangrado, dolor abdominal y pérdida de peso.⁷

En un comienzo agudo, con hemólisis fulminante, palidez, ictericia, orina oscura, hepatomegalia y esplenomegalia, está más asociado con infecciones virales. La esplenomegalia o linfadenopatías sugieren la búsqueda intencionada de un padecimiento linfoproliferativo.⁸

En el **Cuadro 1** se muestra la clasificación de la anemia hemolítica autoinmunitaria según el tipo de autoanticuerpos y su temperatura óptima de reacción.

Afecciones especiales de la anemia hemolítica autoinmunitaria

Síndrome de Evans

El síndrome de Evans es una variante de la anemia hemolítica autoinmunitaria, se trata de

Cuadro 1. Clasificación de la anemia hemolítica autoinmunitaria

Autoanticuerpos calientes, tipo IgG (la temperatura óptima de reacción es de 37°C)
1. Anemia hemolítica autoinmunitaria primaria por autoanticuerpos calientes
2. Anemia hemolítica autoinmunitaria secundaria por autoanticuerpos calientes
Autoanticuerpos fríos, tipo IgM (la temperatura óptima de reacción es de 0-4°C)
1. Síndrome de aglutininas frías
2. Hemoglobinuria paroxística por frío
Autoanticuerpos mixtos
1. Anemia hemolítica autoinmunitaria inducida por fármacos
2. Anemia hemolítica autoinmunitaria con prueba de Coombs negativa

IgG: inmunoglobulina G; IgM: inmunoglobulina M.

una afección hematológica caracterizada por bicitopenia autoinmunitaria: anemia hemolítica y trombocitopenia¹⁰ con o sin sangrado de mucosas y petequias, en ausencia de otra causa.¹³ El diagnóstico se establece por exclusión de otras enfermedades, que incluyen procesos infecciosos, malignos y enfermedades autoinmunitarias.¹⁴ Después de la aparición de la primera citopenia, la segunda ocurre meses después, lo que puede retrasar el diagnóstico.¹⁵ Es un trastorno raro, diagnosticado en 0.8 a 3.7% de todos los casos de anemia hemolítica autoinmunitaria.¹³ En adultos, una causa subyacente puede identificarse hasta en 70% de los casos.¹⁶ Se asocia con diversos trastornos de desregulación inmunitaria en síndromes linfoproliferativos, inmunodeficiencias primarias, enfermedades del colágeno, colitis ulcerativa¹⁷ y enfermedades autoinmunitarias.¹⁸

El diagnóstico diferencial del síndrome de Evans incluye púrpura trombocitopénica trombótica, síndrome de aglutininas frías, otras causas de anemia hemolítica adquirida o hereditaria y anemias hemolíticas inducidas por fármacos.¹⁹

La primera línea de tratamiento contra el síndrome de Evans es corticoesteroides con o sin inmunoglobulina intravenosa.²⁰

Anemia hemolítica autoinmunitaria por IgA

La anemia hemolítica autoinmunitaria mediada por IgA es un acertijo clínico en el que el diagnóstico a menudo se retrasa y que sólo puede ser certero por medio de un examen directo de anti-globulina (DAT) monoespecífico. Este diagnóstico debe considerarse cuando se obtiene un resultado negativo del examen directo de anti-globulina y se tiene alta sospecha de anemia hemolítica autoinmunitaria.¹¹ Los anticuerpos IgA están presentes en 14% de los pacientes con anemia hemolítica autoinmunitaria por anticuerpos calientes, pero siempre en asociación con IgG o IgM.²¹ Los autoanticuerpos IgA identificados aisladamente como el causante de anemia hemolítica autoinmunitaria se han reportado raramente, sólo se identificaron 5 casos entre 5,177 pacientes referidos durante 13.5 años.¹³ Los autoanticuerpos IgA fríos también son bastante raros y aparentemente tienen especificidad restringida contra antígenos Pr y Sa en glicoforinas.²²

En 1984, Clark y su grupo investigaron los mecanismos hemolíticos de la anemia hemolítica autoinmunitaria por IgA.²³ Los autores confirmaron que la presentación clínica de anemia hemolítica autoinmunitaria por IgA era similar a la de la anemia hemolítica autoinmunitaria por IgG y pudieron demostrar *in vitro* que la citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos era su mecanismo de hemólisis. De igual manera hay evidencia de que los autoanticuerpos IgA activan también el complemento por la vía de las lectinas.²⁴ La **Figura 3** propone un algoritmo para el diagnóstico de la anemia hemolítica autoinmunitaria.

Tratamiento de la anemia hemolítica autoinmunitaria

El tratamiento de la anemia hemolítica autoinmunitaria incluye primordialmente corticoesteroides, esplenectomía e inmunosu-

presores. Los corticoesteroides continúan siendo la primera línea de tratamiento contra anemia hemolítica autoinmunitaria primaria por anticuerpos calientes; son efectivos en 70 a 80% de los casos.²⁵ Por lo general se prescribe prednisona, a dosis inicial de 1.0-1.5 mg/kg/día de una a tres semanas hasta alcanzar concentraciones de hemoglobina superiores a 10 g/dL.²⁶ Sin embargo, sólo 1 de 3 casos permanece en remisión a largo plazo una vez que el tratamiento se suspende, 50% requiere dosis de mantenimiento y 20% necesita tratamiento de segunda línea adicional.²⁶ En pacientes con respuesta, la dosis de prednisona debe ser escalonada, reduciendo 20-30 mg/día durante 4-6 semanas, posteriormente 5 mg cada mes.²⁷

Sólo 20% de los pacientes continúa en remisión después de suspender el esteroide; 70% de los pacientes responderán a la esplenectomía, pero con rituximab se reportó una mayor tasa de respuesta.²⁸

Si el paciente no responde inicialmente al tratamiento con corticoesteroides, debemos progresar a la segunda línea de tratamiento. Se han descrito múltiples opciones como tratamiento de segunda línea, aunque rituximab y la esplenectomía son las únicas que han probado efectividad a corto plazo.²

El tiempo de respuesta al tratamiento tiene una amplia variación, algunos pacientes responden rápido y otros tardan semanas o meses.²⁹ Previo a la administración, se recomienda cribado para hepatitis B, porque la reactivación viral es potencialmente fatal.²⁷ El rituximab puede prescribirse en casos de síndrome de Evans secundario a desregulación inmunitaria.³⁰

Existe un reporte de un centro académico de referencia de diferentes esquemas de tratamiento contra el síndrome de Evans, en el que hubo respuesta tras la administración conjunta de

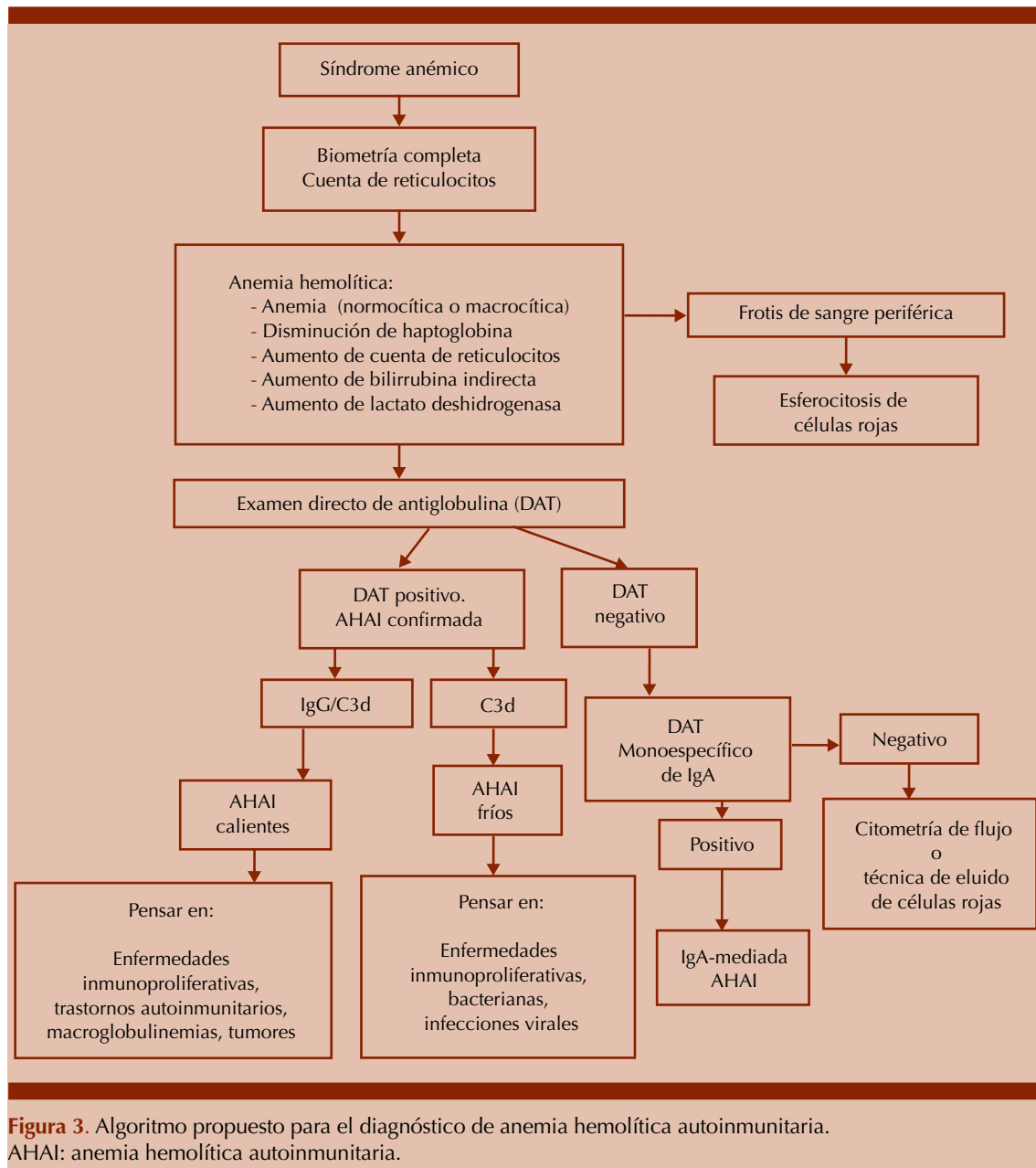


Figura 3. Algoritmo propuesto para el diagnóstico de anemia hemolítica autoinmunitaria. AHA: anemia hemolítica autoinmunitaria.

dexametasona y danazol en 33.3% de los casos, de éstos sólo un caso tuvo recaída, en el que posteriormente se optó por esplenectomía.¹⁹

Cerca de 70% de los pacientes en tratamiento con glucocorticoides y rituximab estaba todavía

en remisión a los 36 meses, en comparación con 45% de los tratados sólo con esteroides.³¹

La esplenectomía se propuso a pacientes sin respuesta a tratamiento con corticoesteroides, requerimientos diarios de mantenimiento con

dosis de prednisona mayor a 10 mg y múltiples episodios de recaída.²

Una remisión parcial o completa se obtiene aproximadamente en dos de tres pacientes (38-82%). Los pacientes con hemólisis persistente posterior a la esplenectomía requieren dosis más bajas de corticoesteroides a las administradas antes de la cirugía.²⁶

El porcentaje de pacientes que tuvieron recaída después de la esplenectomía fue de 13%, descrito en diversos estudios retrospectivos seleccionados.³²

Antes de la cirugía, se indica inmunización contra neumococo, meningococo, *Haemophilus* y particularmente se repite la vacunación contra neumococo a los cinco años.²

Otras opciones terapéuticas, como danazol, ciclosporina y azatioprina, se prescribían como tratamiento de segunda línea en asociación con prednisona, con buenos resultados, pero con carencia de evidencia del beneficio.²⁶

La **Figura 4** muestra el algoritmo del tratamiento de primera y segunda línea contra la anemia hemolítica autoinmunitaria.

REFERENCIAS

1. Barros MMO, Blajchman MA, Bordin JO. Warm autoimmune hemolytic anemia: recent progress in understanding the immunobiology and the treatment. *Transfusion Medicine Reviews* 2010;24:195-210.
2. Lechner K, Jäger U. How I treat autoimmune hemolytic anemias in adults. *Blood* 2020;116:1831-8.
3. Valent P, Lechner K. Diagnosis and treatment of autoimmune haemolytic anaemias in adults: A clinical review. *Wiener Klinische Wochenschrift* 2008;120:136-51.
4. Petz L, Garratty G. Immune hemolytic anemias. *Immune Hemolytic Anemias*. 2nd ed. 2004;1-591.
5. Michel M. Warm autoimmune hemolytic anemia: Advances in pathophysiology and treatment. *Presse Medicale* 2014;43.
6. Berentsen S. Role of complement in autoimmune hemolytic anemia. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* 2015;42:303-10.
7. Gehrs BC, Friedberg RC. Autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol* 2002;69:258-71.
8. Alwar V, Shanthala DAM, Sitalakshmi S, Karuna RK. Clinical patterns and hematological spectrum in autoimmune hemolytic anemia. *J Lab Physicians* 2010;2(1):17-20.
9. Stratton F, Rawlinson VI, Merry AH, Thomson EE. Positive direct antiglobulin test in normal individuals. II. *Clin Lab Haematol* 1983;5(1):17-21.
10. Worledge SM. The interpretation of a positive direct antiglobulin test. *Br J Haematol* 1978;39(2):157-62.
11. Segel GB, Lichtman MA. Direct antiglobulin ("Coombs") test-negative autoimmune hemolytic anemia: A review. *Blood Cells Mol Dis* 2014;52(4):152-60.
12. Chaudhary R, Das SS, Gupta R, Khetan D. Application of flow cytometry in detection of red-cell-bound IgG in Coombs-negative AIHA. *Hematology* 2006;11(4):295-300.
13. Michel M, Chanet V, Dechartres A, Morin AS, et al. The spectrum of Evans syndrome in adults: New insight into the disease based on the analysis of 68 cases [Internet]. *Blood* 2009. Available from: <http://bloodjournal.hematologylibrary.org/cgi/reprint/114/15/3167>
14. Norton A, Roberts I. Management of Evans syndrome. *Br J Haematol* 2006;312:125-37.
15. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975;256(5517):495-7.
16. Dave P, Krishna K, Diwan AG. Evan's syndrome revisited. *J Assoc Physicians India* [Internet]. 2012;60:60-1. Available

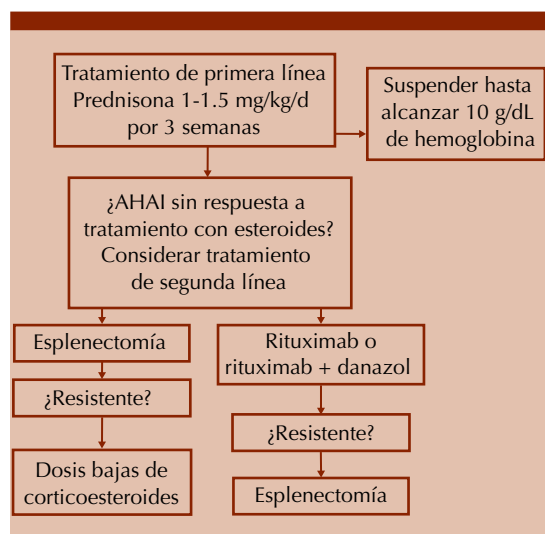


Figura 4. Algoritmo de tratamiento de la anemia hemolítica autoinmunitaria.

AHA: anemia hemolítica autoinmunitaria.

- from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=medl&NEWS=N&AN=23029746>
17. Ucci G, Ferrando P, Valentini D, Zavallone L. A case of Evans' syndrome in a patient with ulcerative colitis. *Dig Liver Dis* 2003;35(6):439-41.
 18. Mcgann PT, Mcdade J, Mortier NA, Combs MR, Ware RE. IgA-mediated autoimmune hemolytic anemia in an infant. *Pediatr Blood Cancer* 2011;56(5):837-9.
 19. Jaime-Pérez JC, Guerra-Leal LN, López-Razo ON, Méndez-Ramírez N, Gómez-Almaguer D. Experience with Evans syndrome in an academic referral center. *Rev Bras Hematol Hemoter* [Internet]. 2015;37(4):230-5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjhh.2015.03.002>
 20. Font J, Jimenez S, Cervera R, Garcia-Carrasco M, Ramos-Casals M, Campdelacreu J, et al. Splenectomy for refractory Evans' syndrome associated with antiphospholipid antibodies: report of two cases. *Ann Rheum Dis* [Internet] 2000;59(11):920-3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11053074>
 21. Hewitt S, Booker DJ, Bailey A. Red cell autoantibodies, multiple immunoglobulin classes, and autoimmune hemolysis. *Transfusion* 1990;30(8):714-7.
 22. Kewitz S, Groß HJ, Kosa R, Roelcke D. Anti-Pr cold agglutinins recognize immunodominant α 2,3- or α 2,6-sialyl groups on glycoporphins. *Glycoconj J* 1995;12(5):714-20.
 23. Clark DA, Dessypris EN, Jenkins DE, Krantz SB. Acquired immune hemolytic anemia associated with IgA erythrocyte coating: investigation of hemolytic mechanisms. *Blood* [Internet]. 1984;64(5):1000-5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6386071>
 24. Suankratay C, Zhang Y, Jones D, Lint TF, Gewurz H. Enhancement of lectin pathway haemolysis by immunoglobulins. *Clin Exp Immunol* 1999;117(3):435-41.
 25. Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R, Booth JR. Autoimmune hemolytic anemia due to iga class autoantibodies. *Immunohematology* 1996;12(1):14-9.
 26. Zanella A, Barcellini W. Treatment of autoimmune hemolytic anemias. *Haematologica* 2014;99:1547-54.
 27. Allard S, Hill A. Autoimmune haemolytic anaemia. *ISBT Sci Ser.* 2016;60(357):85-92.
 28. Barcellini W, Zaja F, Zaninoni A, Imperiali FG, Battista ML, Di Bona E, et al. Low-dose rituximab in adult patients with idiopathic autoimmune hemolytic anemia: Clinical efficacy and biologic studies. *Blood* 2012;119(16):3691-7.
 29. Zaja F, Vianelli N, Sperotto A, Patriarca F, et al. Anti-CD20 therapy for chronic lymphocytic leukemia-associated autoimmune diseases. *Leuk Lymphoma* 2003;44(11):1951-5.
 30. Rodella E, Pacquola E, Bianchini E, Ramazzina E, Paolini R. Consolidation treatment with rituximab induces complete and persistent remission of mixed type Evans syndrome. *Blood Coagul Fibrinolysis* [Internet]. 2008;19(4):315-8. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med5&NEWS=N&AN=18469554%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18469554>
 31. Bussone G, Ribeiro E, Dechartres A, Viallard JF, et al. Efficacy and safety of rituximab in adults' warm antibody autoimmune haemolytic anemia: Retrospective analysis of 27 cases. *Am J Hematol* 2009;84(3):153-7.
 32. Diesen DL, Zimmerman SA, Thornburg CD, Ware RE, et al. Partial splenectomy for children with congenital hemolytic anemia and massive splenomegaly. *J Pediatr Surg* 2008;43(3):466-72.