

L'ANEMIA EMOLITICA IMMUNO-MEDIATA (Parte I) CONSIDERAZIONI GENERALI*

A.F. STEWART, DVM

Berkeley Dog and Cat Hospital - Berkeley, California

B.F. FELDMAN, DVM, PhD

Virginia Tech

La fisiopatologia delle affezioni emolitiche immuno-mediate è complessa e la relativa terapia comporta delle difficoltà. Gli eritrociti sono ricoperti in superficie da immunoglobuline, dal complemento (C) o da entrambi gli elementi, di conseguenza vengono allontanati dal circolo ematico per distruzione diretta e/o fagocitosi. L'efficacia del trattamento e la possibilità di formulare una prognosi dipendono dalla comprensione dei meccanismi alla base della condizione.

Il presente lavoro è diviso in due parti e descrive i caratteri immunologici, fisiopatologici ed eziologici dell'emolisi immuno-mediata e le attuali teorie e metodologie terapeutiche ad essa associate. Nella prima parte, l'attenzione è rivolta alle basi immunologiche della condizione e alle diverse forme riscontrate nell'uomo. Nella seconda parte verranno prese in considerazione le sindromi cliniche conosciute nel cane, le teorie da cui derivano i diversi trattamenti e i consigli terapeutici. Consultando le pubblicazioni recenti è possibile individuare le indicazioni prognostiche e le modalità terapeutiche più efficaci.

ASPETTI IMMUNOLOGICI

L'anemia emolitica immuno-mediata è una reazione immunitaria di II tipo in cui le emazie vengono distrutte attraverso l'intervento di anticorpi e/o del complemento.¹ La distruzione eritrocitaria è prodotta da 5 sottotipi di reazione immunitaria (Tab. 1). Le agglutinine ottenute mediante lavaggio degli eritrociti in soluzione fisiologica appartenenti al sottotipo I provocano fenomeni di emoagglutinazione intravascolare. Dal punto di vista clinico, il sottotipo I assume il carattere di processo iperacuto che si manifesta come agglutinazione evidente in vitro. Questo rende inutile il ricorso al test antiglobulinico diretto (test di Coombs diretto).

Il sottotipo II prevede l'intervento di emolisine intravascolari che fissano il complemento in quantità sufficiente a

provocare emolisi. Questi anticorpi generalmente appartengono alla classe delle immunoglobuline M (IgM), benché la presenza di quantità elevate di IgG possa produrre risultati analoghi.

Il sottotipo III è costituito da un anticorpo incompleto o insufficiente a provocare l'emoagglutinazione diretta o la lisi ma che provoca la distruzione delle emazie per mezzo del sistema reticolo-endoteliale o per eritrofagocitosi. Per rilevare questo anticorpo è necessario eseguire un test di Coombs diretto.

Il sottotipo IV è composto da crioagglutinine che inducono l'agglutinazione in condizioni di temperatura inferiori a 37 °C. Generalmente, questa agglutinazione è mediata dalle immunoglobuline M, benché in rari casi siano anche coinvolte le IgG.

Il sottotipo V viene definito immunoglobulina non-agglutinante agente a freddo. Alle basse temperature si verifica una maggiore distruzione eritrocitaria in assenza di agglutinazione.

Questa classificazione non ha valore assoluto poiché, con il progredire del processo patologico, le caratteristiche cliniche tendono ad assumere aspetti intermedi fra i vari sottotipi. La suddivisione è importante per spiegare la velocità di sviluppo della sindrome ed inoltre può consentire di formulare una prognosi. Nel cane, i sottotipi I e II dell'anemia emolitica immuno-mediata presentano evoluzione iperacuta. Nelle forme acute, sostenute da qualsiasi classe anticorpale, l'anamnesi riferisce manifestazioni di durata compresa fra 2 e 5 giorni, con caratteri intermedi fra le sottoclassi II e III. I casi cronici, in cui vengono riferite manifestazioni cliniche di durata superiore a 5 giorni, generalmente sono classificati come sottotipo III e V, sono dotati di minore gravità e comportano risposte più lente.

L'AFFEZIONE NELL'UOMO

Nell'uomo, si è tentato di individuare una correlazione fra i reperti anamnestici e immunologici e l'esito definitivo. Nel primo studio retrospettivo (comprendente 80 casi di anemia emolitica immuno-mediata nel bambino), Habibi ha distinto 2 forme cliniche principali, quella acuta

*Da "The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian" Vol. 15, N. 3, marzo 1993, 372-381. Con l'autorizzazione dell'Editore.

Tabella 1

Sottotipi immunologici di anemia emolitica immuno-mediata

Sottotipo	Descrizione	Decorso	Agente
I	Agglutinine ottenute mediante lavaggio degli eritrociti in soluzione fisiologica	Iperacuto	Emoagglutinazione intravascolare; agglutinazione evidente in vitro
II	Emolisi intravenosa	Iperacuto o acuto	Immunoglobuline M, grandi quantità di immunoglobuline G, complemento; emoagglutinazione intravascolare; agglutinazione evidente in vitro
III	Agglutinazione incompleta o emolisi incompleta	Acuto o cronico	Distruzione delle emazie mediata dalle immunoglobuline G ed eritrofagocitosi ad opera del sistema delle cellule fagocitarie mononucleate
IV	Crioagglutinine	Cronico	Immunoagglutinine M, raramente immunoglobuline G; agglutinazione completa in corrispondenza di temperature inferiori a quella corporea
V	Immunoglobuline agenti a freddo, non agglutinanti	Cronico	Immunoglobuline M, (raramente immunoglobuline G); eritrofagocitosi; distruzione eritrocitaria di minima entità

transitoria e quella cronica protratta.³ È stata individuata una correlazione statisticamente significativa fra gli aspetti clinici rilevati alla visita, quelli ematologici e immunologici e l'esito definitivo dell'affezione. La forma acuta era seguita dalla guarigione completa, mentre quella cronica comportava una mortalità pari all'11,2%.³

Schreiber ha notato che, nel bambino, l'anemia emolitica immuno-mediata tende ad assumere carattere acuto nel 48% dei casi, presenta un decorso clinico breve e di solito va incontro a remissione completa.⁴ In una rassegna di 865 casi osservati presso un centro trasfusionale regionale, Sokol ha identificato un gruppo di 62 casi di anemia emolitica immuno-mediata sostenuta sia dalle IgG che dalle IgM. In questi pazienti, il decorso dell'affezione era tendenzialmente cronico e discontinuo, accompagnato da fenomeni di grave emolisi⁵, con carattere apparentemente compreso fra i sottotipi II e IV. Pertanto, la conoscenza degli elementi immunologici coinvolti può facilitare la classificazione di un determinato caso e consentire di formulare una prognosi.

L'anemia emolitica immuno-mediata spesso viene distinta in emoagglutinazione a caldo (mediata dalle IgG e/o dal complemento) ed emoagglutinazione a freddo (mediata dalle IgM e dal complemento).⁶ In una segnalazione relativa a 109 casi umani, il 70% delle forme rientrava nel tipo caldo.⁷ In un altro studio vennero segnalate percentuali di incidenza comprese fra 15% e 50% per le IgG, 30% e 50% per C₃ e/o C₄ e pari al 25% per le IgG e il C₃, mentre l'agglutinazione a freddo era rara.⁸ In un'altra segnalazione, il C₃ venne identificato nella metà circa dei 134 casi esaminati.² Questa schematizzazione si è resa possibile soltanto negli ultimi 12 anni, grazie alla disponibilità di sieri antiimmunoglobulinici specifici.⁵

Nel bambino, in cui sembrano esistere due forme cliniche, le IgG sono dirette contro l'antigene (Ag) proteico associato al sistema di gruppi sanguigni Rh^{4,6} che ha sede a livello della membrana eritrocitaria. Il complemento e le IgG vennero identificati in 39 degli 80 bambini affetti da anemia emolitica immuno-mediata in forma cronica e protratta e nel 70%-80% di quelli esaminati in un altro studio.⁴ La presenza dell'IgG, associata o meno al complemento, venne rilevata nell'85%-95% dei casi cronici della condizione e nel 30% di quelli acuti.

Nella maggior parte dei casi, la lisi mediata esclusivamen-

te dal complemento si verifica nelle forme acute transitorie.⁸ Comunemente, nei casi acuti, sulla superficie dell'eritrocita sono presenti esclusivamente le IgM oppure il complemento.^{3,4,9-12} Il riscontro delle IgG, accompagnate o meno dal complemento, sembra indicare un decorso clinico più protratto e probabilmente di maggiore gravità. Per comprendere a fondo il processo emolitico, è necessario conoscere le classi immunoglobuliniche coinvolte e il complemento.

IMMUNOGLOBULINE G

Le immunoglobuline G sono molecole monomeriche dotate esclusivamente di due siti di legame con l'antigene. Solitamente, la IgG non è in grado di agglutinare direttamente l'eritrocita e viene pertanto considerata un'agglutinina incompleta.⁶ Alcune ricerche condotte utilizzando porcellini d'India carenti di C₄, hanno dimostrato che sono necessarie da 800 a 2000 molecole di IgG per produrre un singolo sito di fissaggio del C₁.^{4,13} In seguito all'agglutinazione, la distruzione delle emazie si può verificare attraverso due meccanismi (Fig. 1). In primo luogo, i macrofagi posseggono diversi recettori per la porzione Fc dell'immunoglobulina G₃⁶ e (in minore misura) della G₁ e della G₂.¹⁴ Questi macrofagi hanno sede principalmente nella milza⁶ e la loro attività fagocitaria provoca la comparsa di splenomegalia. Tuttavia, con l'aumentare del numero di IgG legate agli eritrociti (a cui corrisponde un aumento di attività dei siti C₁), il fegato assume il ruolo di sede principale della clearance.⁴

Gli eritrociti possono essere distrutti anche ad opera del complemento. Quando sia stato generato un sito di fissaggio del C₁, il C₄ e il C₂ possono dare origine alla C₃ convertasi che scinde il C₃ in C_{3d} e C_{3b}. Quest'ultimo si deposita sulla membrana dell'eritrocita, quindi, attraverso le tipiche reazioni a catena si verifica la lisi mediata dal complemento oppure il deposito di C_{3b} porta all'eritrofagocitosi completa o parziale attraverso i recettori C_{3b}. Ne deriva la formazione di sferociti i quali, essendo meno flessibili degli eritrociti normali, vengono distrutti con maggiore rapidità.⁸ Pertanto, la distruzione mediata dal complemento può provocare lisi extravascolare, emolisi intravascolare e sferocitosi.

Questi eventi consentono di spiegare le manifestazioni cliniche. Inizialmente, la produzione di IgG può indurre lo

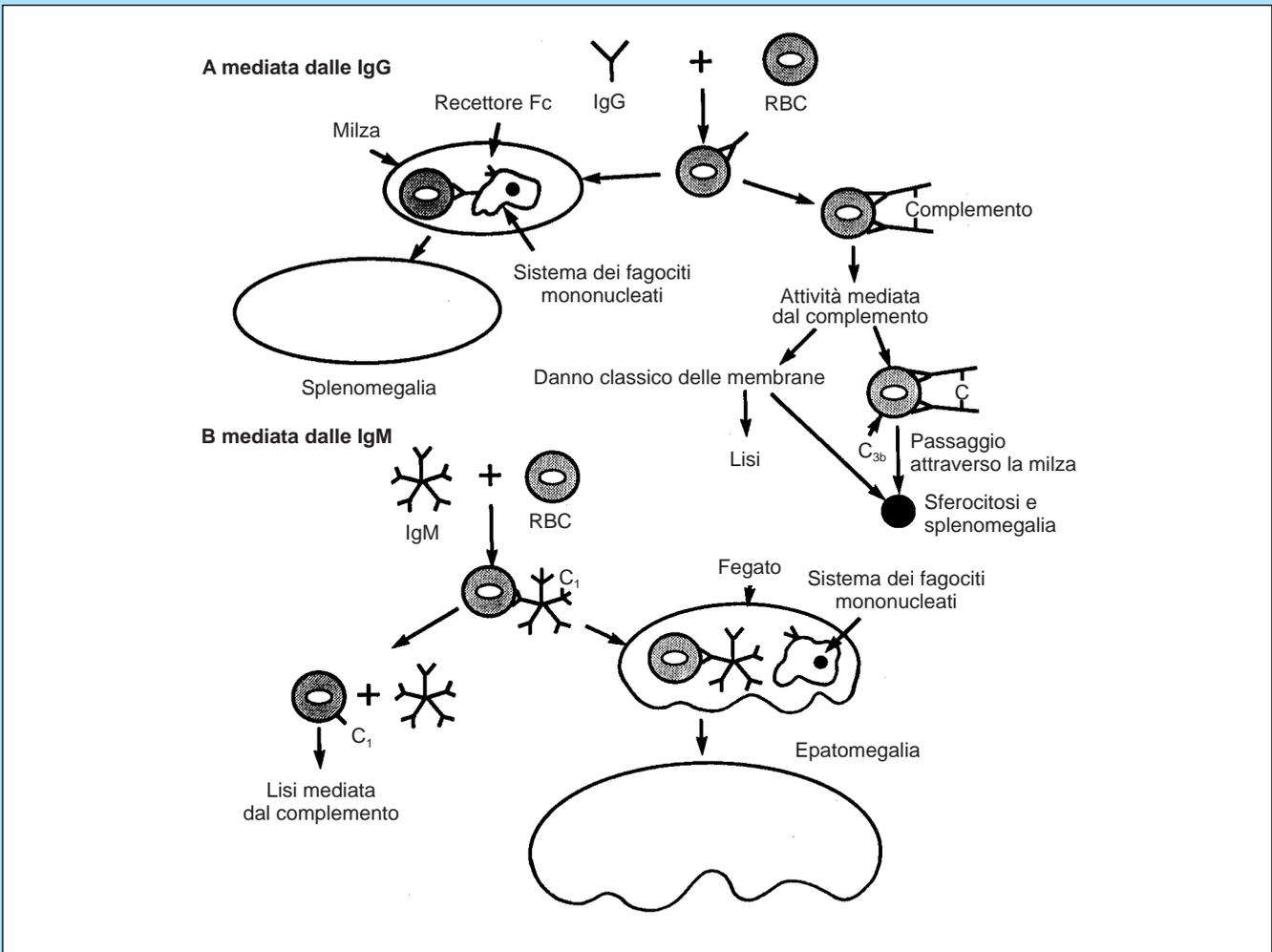


FIGURA 1 - Distruzione cellulare. (A) La distruzione eritrocitaria mediata dalle IgG può provocare lo sviluppo di splenomegalia, emolisi e sferocitosi. (B) Al contrario, la distruzione eritrocitaria mediata dalle IgM si verifica in condizioni di basse temperature e può attivare le reazioni del complemento con una singola molecola. Poiché i recettori Fc per le IgM hanno sede principalmente nel fegato, le affezioni mediate dalle IgM tendono a provocare lo sviluppo di epatomegalia.
 Ig = immunoglobulina; Fc = frammento costante dell'immunoglobulina; RBC = eritrocita; C = complemento.

sviluppo di splenomegalia conseguente ad eritrofagocitosi. Con l'aumentare degli anticorpi legati agli eritrociti, viene attivata la classica catena di reazioni del complemento che provoca fenomeni di lisi eritrocitaria, sferocitosi e ulteriore fagocitosi. In questa fase, il test antiglobulinico diretto spesso fornisce risultato positivo, mentre quello indiretto può dare esito negativo. Le IgG libere nel siero possono essere rilevate soltanto quando siano presenti in quantità sufficiente sulla superficie eritrocitaria.⁶ In questo stadio, il sistema delle cellule fagocitarie mononucleari a livello epatico può assumere il ruolo di sede principale di clearance.^{4,13,15}

Lo sviluppo rapido di questi eventi influenza il decorso clinico effettivo e consente di classificare il processo in sottotipo I o II. In medicina veterinaria, la maggior parte dei soggetti portati alla visita presenta già fenomeni di emolisi intravascolare, sferocitosi, positività dei test antiglobulinici diretto e indiretto ed epatosplenomegalia.

IMMUNOGLOBULINE M

Le immunoglobuline M sono molecole pentameriche, dotate della capacità di agglutinare le cellule in presenza

dell'idiotipo appropriato.⁶ Pertanto, sono note come agglutinine complete. Schreiber, utilizzando i porcellini d'India come modello, ha dimostrato che 60 molecole di IgM possono generare 60 siti di fissaggio del C₁. Questo era il numero necessario a ridurre il tempo di sopravvivenza delle emazie.⁴ L'IgM comunemente riconosce il focus semplice lineare (i) o quello polisaccaridico complesso ramificato (K) presenti sulla superficie degli eritrociti umani.⁶ Nel corso dell'infezione, il virus di Epstein-Barr è associato al focus (i) e i micoplasmii al focus (I). Come prevedibile, l'emolisi mediata dalla IgM tende a verificarsi in seguito a queste infezioni.

In uno studio condotto nel bambino, il 50-75% delle malattie emolitiche di tipo freddo si sviluppava in seguito alle infezioni da micoplasmii, virus di Epstein-Barr, virus della parotite o citomegalovirus.^{6,9} Inoltre, questa IgM solitamente è di tipo policlonale, mentre quella derivante da casi di linfosarcoma, lupus eritematoso sistemico o leucemia tende ad essere monoclonale.⁴ La forma più comune di crioagglutinazione si verifica nei pazienti umani di età superiore a 50 anni⁴⁻⁶ e viene considerata idiopatica.

L'attività agglutinante delle IgM si manifesta effettivamente in corrispondenza delle basse temperature poiché

l'idiotopo (I), presente sulla superficie eritrocitaria, subisce modificazioni strutturali che lo espongono alla molecola immunoglobulinica.⁴ Solitamente, l'affinità è maggiore alle temperature comprese fra 0 °C e 10 °C⁶, mentre altre segnalazioni indicano un'affinità per temperature pari o superiori a 30° C.⁵ Dopo il legame dell'IgM, si verifica il legame del C₁ e le reazioni a catena del complemento possono avere inizio. In seguito, l'IgM può staccarsi dall'eritrocita. Le reazioni a catena del complemento sono auto-perpetuanti e producono le manifestazioni descritte in precedenza. Nelle anemie emolitiche di tipo crioanticorpale (in contrapposizione a quelle di tipo caldo), il test antiglobulinico diretto spesso fornisce risultati negativi, poiché l'IgM è legata all'eritrocita nell'ambito di un intervallo di temperature limitato, mentre il test indiretto spesso risulta positivo.⁶ È stata notata una proporzionalità diretta fra titoli anticorpali e l'entità del processo patologico.^{4,16}

Poiché l'IgM possiede una capacità limitata di legame con il C₁, i fenomeni di emolisi intravascolare che ne derivano sono scarsi⁶; pertanto il sottotipo II dell'affezione è raro. La tipica forma emolitica crioanticorpale con necrosi delle estremità distali deriva da una reazione appartenente al sottotipo IV che induce fenomeni di occlusione vascola-

re in quelle sedi. Analogamente alla distruzione eritrocitaria mediata dalle IgG, il legame dell'IgM induce fenomeni di eritrofagocitosi (come osservato nel sottotipo V). I recettori per la porzione Fc della molecola di IgM solitamente hanno sede nel fegato, mentre una percentuale inferiore al 20% ha sede nella milza.⁴

L'efficienza di questo processo dimostra chiaramente come l'affezione mediata dalle IgM possa assumere andamento acuto e provocare lo sviluppo di epatosplenomegalia con emolisi intravascolare di minima entità.⁴ Inoltre, il trattamento della patologia primaria, o associata, comporta la risoluzione relativamente rapida dell'affezione consentendo di migliorare la prognosi.

IL COMPLEMENTO

È opportuno riassumere i passaggi della catena di reazioni del complemento per comprendere le conseguenze della sua attivazione (Fig. 2). La catena di reazioni inizia con la via classica o con quella alternativa che si congiungono nella via comune. La via alternativa probabilmente è più diretta, essendo attivata da batteri, lipopolisaccaridi, IgA, IgE e IgG. Queste sostanze sono in grado di reagire

con il C_{3b} libero neoformato per dare origine alla C₃ convertasi. La formazione di quest'ultima attraverso la via classica inizia con il legame fra il C₁ e i focus di un'IgM oppure di due molecole vicine di IgG. Dopo essere stato attivato, il C₁ converte il C₂ in C_{2a} e il C_{2b} converte il C₄ in C_{4a} e C_{4b}. Il C_{4a} agisce quale anafilotossina e il C_{4b} aumenta l'immunoaderenza. Il C_{4b} e il C_{2a} si uniscono per formare la C₃ convertasi e scindere il C₃.

La via comune prosegue con la dissociazione del C₃ in C_{3b} e C_{3a}; quest'ultima è una potente anafilotossina che provoca il rilascio di istamina da parte delle mastcellule e svolge attività chemiotattica verso i granulociti neutrofili. Il C_{3b} si unisce al C_{2,4} per formare la C₅ convertasi e catalizzare la scissione di C₅ in C_{5a} (un'altra anafilotossina)⁶ e C_{5b}. La formazione di C_{5b} è seguita dall'adesione di C₆ e C₇ che può provocare la lisi cellulare. In seguito all'unione di C₈ e C₉ prende origine il complesso di attacco alla membrana (MAC o membrane attack complex), in grado di ledere la membrana cellulare dell'eritrocita provocandone la lisi.

Nella maggior parte dei casi, la lisi mediata esclusivamente dal complemento è stata associata a processi acuti con carattere transitorio.⁸ In queste circostanze, il componente C_{3d} (un prodotto del C_{3b}) può rimanere adeso all'eri-

trocita.⁴

Tuttavia, poiché i macrofagi non posseggono recettori corrispondenti al C_{3d}, le emazie colpite, dopo l'insulto iniziale, possono presentare un tempo di sopravvivenza normale.^{4,17-19} Pertanto, il riscontro del solo complemento, mediante il test antiglobulinico diretto, può rappresentare un segno prognostico favorevole.

CAUSE

L'avvio della distruzione cellulare può seguire diverse modalità. Sostanzialmente esiste un'alterazione degli eritrociti oppure del controllo immunologico.

Le alterazioni iniziali possono derivare da uno dei seguenti fattori:

- Una modificazione intrinseca della membrana eritrocitaria con produzione di un antigene nuovo che stimola una risposta immunitaria normale.
- Un'alterazione indotta dai farmaci che espone un antigene precedentemente celato o sequestrato.²⁰ Si ritiene che questa evenienza si verifichi con numerose sostanze appartenenti al gruppo dell'alfa-metil-dopa e delle cefalosporine da cui derivano fenomeni di emolisi immuno-

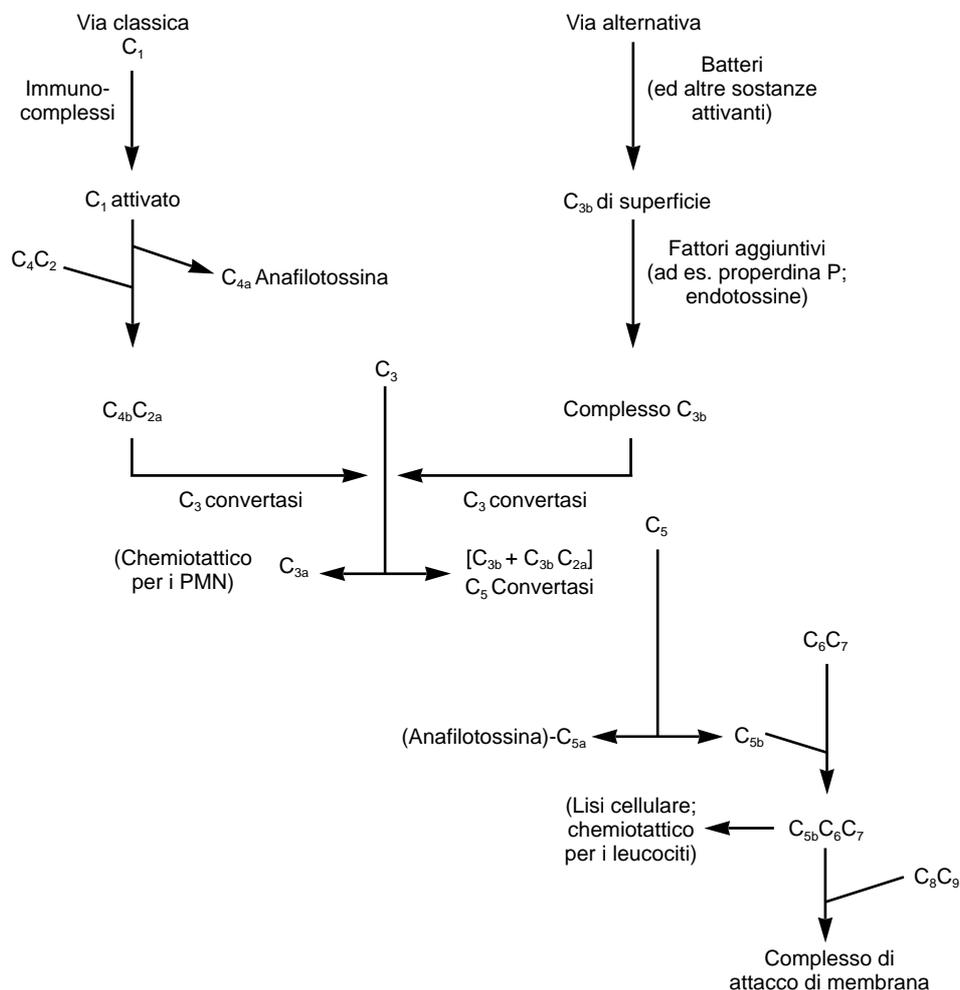


FIGURA 2 - Catena di reazioni del complemento. Il complemento, che può essere attivato dalla via classica o da quella alternativa, produce fattori chemiotattici, anafilotossine e il complesso di attacco di membrana.
 C = complemento, PMN = leucociti neutrofili polimorfonucleati.

mediata.^{5,6}

- Agenti infettivi che condividono alcuni determinanti antigenici con i tessuti dell'organismo¹⁴ oppure che ne comportano l'alterazione. Quest'ultimo caso corrisponde alle modificazioni del focus (i) indotte dal virus di Epstein-Barr e quelle del focus (I) indotte dai micoplasmi e può spiegare le malattie mediate dalle IgM.
- Predisposizione genetica che provoca il mancato riconoscimento delle componenti proprie all'organismo.^{8,21}
- Insufficienza acquisita dei meccanismi di autoregolazione. In soggetti adulti con piastrine associate ad IgG è stata riscontrata l'insufficienza funzionale del soppressore T (C_8). La guarigione si verificava contemporaneamente al miglioramento della funzione di C_8 .
- Proliferazione di un clone primario o secondario.² Un clone primario può essere idiopatico oppure può indicare una situazione di ridotta autoregolazione. La comparsa di un clone secondario può dipendere da una neoplasia primaria. Questi cloni tendono a possedere carattere oligoclonale.
- Eritropoiesi deficitaria o inefficiente.⁷ Questa può provocare la comparsa di eritrociti aberranti con nuovi

determinanti antigenici. Sono stati riscontrati anticorpi diretti contro i precursori degli eritrociti e le unità eritroidi formanti colonie.¹⁶

Per definizione, l'anemia emolitica immuno-mediata è la distruzione degli eritrociti indotta da processi immunitari di tipo idiopatico o che riconoscono una causa primaria. L'uso del termine *anemia emolitica autoimmune* implica una risposta immunitaria primitiva nei confronti di un antigene proprio.

In medicina veterinaria, l'uso della definizione *anemia emolitica immuno-mediata* è più appropriato. Infatti, benché siano più frequenti le forme idiopatiche, le eventuali cause raramente vengono identificate. L'accertamento dell'eziologia consente di applicare misure terapeutiche più adatte e di formulare una prognosi più corretta. In caso di affezioni concomitanti o di contemporanea somministrazione di farmaci è necessario stabilire se l'emolisi sia indipendente o correlabile a tali fattori. Quando venga individuato un processo patologico concomitante, si rende necessario un intervento terapeutico che solitamente contribuisce a risolvere con maggiore rapidità la distruzione

eritrocitaria secondaria.

Nell'uomo è stato individuato un ampio elenco di processi patologici associati all'emolisi.^{3,5,9} Nel bambino, solitamente, sono presenti disordini primari responsabili della natura transitoria dell'emolisi. Spesso è sufficiente una terapia conservativa e il tasso di mortalità è relativamente basso. Nello studio condotto da Habibi, su 80 casi di anemia emolitica autoimmune nel bambino, 23 delle 34 forme acute e transitorie erano associate a infezioni pregresse e 24 delle 46 forme croniche e protratte erano associate a disordini rappresentati principalmente da anomalie del sistema immunitario.³ In un'altra segnalazione, riguardante otto pazienti in età pediatrica con anemia emolitica immuno-mediata, sette soggetti presentavano l'affezione in forma acuta e in quattro di questi era in corso un processo infettivo.¹⁴

In uno studio relativo a 22 casi, il 32% dei soggetti presentava un deficit immunitario o una malattia linfoproliferativa. Una percentuale pari al 50% aveva presentato infezioni pregresse e, nella maggior parte di questi soggetti l'affezione aveva carattere acuto ed autolimitante.⁹ Nello studio condotto da Sokol, relativo a 865 casi, l'incidenza dell'anemia emolitica immuno-mediata aumentava notevolmente nei soggetti di età compresa fra 41 e 50 anni.^{4,5,22} In questa fascia di età, il 40,9% dei casi venne definito idiopatico, mentre i restanti casi vennero per lo più associati a processi neoplastici o infettivi.⁵ Liesveld ha segnalato associazioni analoghe con affezioni neoplastiche o immunologiche.⁷

Appare chiaro che la conoscenza dei meccanismi patogenetici delle affezioni emolitiche immuno-mediate consente di comprenderne maggiormente il decorso clinico.

Nell'uomo, la distinzione delle sindromi basata su età, esordio e mediatori coinvolti si è rivelata vantaggiosa. Il numero crescente di ricerche attualmente in corso nel campo immunologico consentirà di approfondire la comprensione e migliorare il trattamento di queste patologie.

Note sugli autori

Il Dr. Stewart, Diplomate dell'American College of Veterinary Internal Medicine, è affiliato al Special Veterinary Services al Berkeley Dog and Cat Hospital a Berkeley, California. Il Dr. Feldman è affiliato al Department of Pathobiology, Virginia-Maryland Regional College of

Veterinary Medicine, Virginia Tech, Blacksburg, Virginia.

Bibliografia

1. Jackson ML, Kruth SA: Immune-mediated hemolytic anemia and thrombocytopenia in the dog. A retrospective study of 55 cases diagnosed from 1969 through 1983 at the Western College of Veterinary Medicine. *Can Vet J* 26:245-250, 1985.
2. Werner LL: Coomb's positive anemias in the dog and cat. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2(2):96-101, 1980.
3. Habibi B, Homberg J, Schaison C, Salmon C: Autoimmune hemolytic anemia in children: A review of 80 cases. *Am J Med* 56:61-69, 1974.
4. Schreiber A, Frank M: Acquired hemolytic anemias, in Samter M (ed): *Immunological Diseases*, ed 4. Boston, Little, Brown & Co, 1988, pp 1120-1174.
5. Sokol RJ, Hewitt S, Stamps BK: Autoimmune haemolysis: An 18-year study of 865 cases referred to a regional transfusion center. *Br Med J* 282:2023-2027, 1981.
6. Warren RW, Collins ML: Immune hemolytic anemia in children, in *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, vol 9. Boca Raton, FL, CRC Press, 1988, pp 65-73.
7. Liesveld JL, Rowe JM, Lichtman MA: Variability of the erythropoietic response in autoimmune hemolytic anemia. Analysis of 109 cases. *Blood* 69:820-826, 1987.
8. Dodds JW: Autoimmune hemolytic disease and other causes of immune-mediated anemia. An overview. *JAAHA* 13:437-441, 1977.
9. Buchanan GR, Boxer LA, Nathan DG: The acute and transient nature of idiopathic immune hemolytic anemia in children. *J Pediatr* 88:780-783, 1976.
10. Zupanska B, Lawkowicz W, Gorska B, et al: Autoimmune haemolytic anemia in children. *Br J Haematol* 34:551, 1976.
11. Carapella deLuca E, Casadei AM, dePsero G, et al: Autoimmune haemolytic anaemia in childhood. Follow-up in 29 cases. *Vox Sang* 36:13, 1979.
12. Heisel MA, Ortega JA: Factors influencing prognosis in childhood hemolytic anemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 5:147, 1983.
13. Atkinson JP, Schreiber AD, Frank MM: Effects of corticosteroids and splenectomy on the immune clearance and destruction of erythrocytes. *J Clin Invest* 52:1509-1517, 1973.
14. Park D, Yang C, Kim K: Autoimmune hemolytic anemia in children. *Yonsei Med J* 28:313-321, 1987.
15. Schulman I: Idiopathic (immune) thrombocytopenic purpura in children: Pathogenesis and treatment. *Pediatr Rev* 516:173-178, 1983.
16. Mitchell CA, Van der Weyden BM, Firkin BG: High dose intravenous gamma globulin in Coombs' positive hemolytic anemia. *Aust NZ J Med* 17:270-274, 1987.
17. Schreiber AD, Frank MM: Role of antibody and complement in the immune clearance and destruction of erythrocytes. II. Molecular nature of IgG and IgM complementfixing sites and effects of their interaction with serum. *J Clin Invest* 51:563, 1972.
18. Atkinson JP, Frank MM: Studies on the in vivo effects of antibody: Interaction of IgM antibody and complement in the immune clearance and destruction of erythrocytes in man. *J Clin Invest* 54:339, 1974.
19. Jaffe CS, Atkinson JP, Frank MM: The role of complement in the clearance of cold agglutination sensitized erythrocytes in man. *J Clin Invest* 58:942, 1976.
20. Ahn YS, Harrington WJ: Danazol for the treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 308:1396-1399, 1983.
21. Feldman BF, Handagama P: Splenectomy as adjunctive therapy for immune-mediated thrombocytopenia and hemolytic anemia in the dog. *JAVMA* 187:617-619, 1987.
22. Pirotsky B: Heredity aspects of autoimmune hemolytic anemia: A retrospective analysis. *Vox Sang* 14:334, 1968.