

L'ANEMIA EMOLITICA IMMUNO-MEDIATA (PARTE II) FORME CLINICHE, DIAGNOSI E POSSIBILITÀ TERAPEUTICHE*

A.F. STEWART, DVM

Berkley Dog and Cat Hospital - Berkley, California

B.F. FELDMAN, DVM, PHD

Virginia Tech

Il presente lavoro è suddiviso in due parti. Nella prima sono state descritte le basi immunologiche dell'anemia emolitica immuno-mediata e le forme con cui tale patologia si manifesta nell'uomo. La seconda parte considera le caratteristiche cliniche, il decorso e le forme dell'affezione nel cane e nel gatto. Inoltre, verranno descritte le possibilità terapeutiche disponibili.

SEGN CLINICI NEL CANE

Nell'uomo, il 25-40% dei casi di emolisi viene considerato idiopatico, mentre nel cane tale percentuale può raggiungere il 60-75%.^{1,2} Prima di formulare una diagnosi di anemia emolitica immuno-mediata bisogna escludere altre eziologie e diagnosi differenziali (vedi Cause di Anemia Emolitica). Nella specie canina, la vera anemia emolitica immuno-mediata colpisce soprattutto le femmine¹⁻³ e solitamente si riscontra negli animali giovani o di età media.¹⁻³ Dodds ha rilevato una maggiore incidenza della condizione nelle femmine con anomalie del ciclo riproduttivo.² È stato osservato che la presenza di livelli elevati di estrogeni favorisce lo sviluppo delle malattie autoimmuni.

È stata riconosciuta un'incidenza stagionale; infatti il numero dei casi aumenta nel corso della primavera.³ Nell'ambito di una razza, alcune famiglie sembrano maggiormente esposte alla condizione. Le razze comunemente colpite sono rappresentate da barboncino, cocker spaniel, setter irlandese² e bobtail.⁴ Nel cane, la reale incidenza dell'anemia emolitica immuno-mediata è sconosciuta, mentre nell'uomo si ritiene colpisca un individuo su 75.000 o 80.000.^{3,5,6}

I segni clinici dell'anemia emolitica immuno-mediata sono ampiamente correlati all'anemia e alla distruzione delle emazie. I soggetti colpiti dai sottotipi I e II solitamente vengono portati alla visita con affezione in fase acuta, mentre quelli colpiti dai sottotipi III, IV e V presen-

tano un decorso più cronico^{7,8} e concomitanti anomalie di laboratorio. Le manifestazioni riferite dall'anamnesi spesso sono aspecifiche e possono comprendere anoressia, depressione, emesi, febbre, debolezza o disturbi addominali. All'esame clinico è possibile riscontrare epatosplenomegalia, pallore delle mucose, ittero, petecchie o ecchimosi, linfadenopatia, tachipnea, dolori articolari e lesioni cutanee (soprattutto quando siano coinvolte le immunoglobuline M).^{5,7,9}

Il profilo biochimico contribuisce a determinare l'eziologia e l'entità delle alterazioni presenti e fornisce una serie di dati di base. Spesso, le alterazioni secondarie alla distruzione eritrocitaria sono evidenti e comprendono l'innalzamento della bilirubinemia totale, della proteinemia totale e degli enzimi epatici. Lo sviluppo di iperazotemia prerenale o renale può dipendere da uno stato di disidratazione oppure da danni renali diretti provocati dalla cristallizzazione dell'emoglobina libera all'interno dei tubuli. Attraverso le analisi delle urine è possibile evidenziare la presenza di emoglobinuria. Questa condizione si rende evidente quando l'emolisi intravascolare sia di entità sufficiente a indurre la saturazione dei carrier, rappresentati dall'aptoglobina e dall'emopessina, e delle capacità di riassorbimento dei tubuli convoluti prossimali.¹⁰

DIAGNOSI

Emogramma e test antiglobulinico diretto

L'emogramma e il test antiglobulinico diretto (o test di Coombs diretto) probabilmente rappresentano gli esami di maggiore importanza per diagnosticare e differenziare i vari sottotipi; tuttavia, spesso i risultati non concordano con la diagnosi di anemia emolitica immuno-mediata. La presenza di reticolociti e di sferociti dipende da numerosi fattori. La comparsa di reticolociti nel circolo ematico, in risposta ad una perdita acuta di emazie circolanti, richiede circa quattro o cinque giorni.⁸ In caso di insorgenza acuta o iperacuta, come nei sottotipi I e II, la reticulocitosi può non essere ancora evidente.¹¹ Se gli anticorpi sono diretti contro i precursori degli eritrociti, i reticolociti possono

*Da "The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian" Vol. 15, N. 11, novembre 1993, 1479-1491. Con l'autorizzazione dell'Editore.

essere assenti. Nelle forme iperacute dell'anemia emolitica immuno-mediata (sottotipi I e II), l'emogramma può rivelare uno stato di notevole anemia, moderata emolisi e scarsi sferociti.

Nei casi acuti, l'esame evidenzia quadri tipici di anemia rigenerativa e leucocitosi, con aumento dei granulociti neutrofili maturi, spesso accompagnato da uno spostamento a sinistra della formula di Arneth. È comune la presenza di sferociti. L'anemia emolitica immuno-mediata in forma cronica (sottotipi da III a V) è caratterizzata da una notevole risposta rigenerativa e da sferocitosi. Il valore ematocrito reale può subire un falso innalzamento poiché gli sferociti e i reticolociti, a differenza degli eritrociti normali, non si depositano correttamente all'interno dei capillari.

Il grado di sferocitosi dipende dalla modalità della distruzione eritrocitaria. Nell'emolisi mediata dal complemento (C), gli sferociti possono mancare poiché l'eritrocita viene totalmente distrutto^{7,12}, mentre nelle forme mediate dalle IgG, il riscontro di tali elementi è più comune. La leucocitosi, spesso con spostamento a sinistra della formula di Arneth,^{1,7} può essere attribuita a iperattività del midollo osseo, stati di stress o a prodotti intermedi della catena del complemento dotati di attività chemiotattica. Benché l'emogramma possa fornire quadri compresi fra la leucocitosi e la leucopenia, sembra esistere una correlazione fra il grado di anemia e l'intensità della reazione immunitaria.¹²

L'interpretazione degli emogrammi felini comporta maggiori difficoltà. Le dimensioni ridotte degli eritrociti rendo-

no difficile l'identificazione degli sferociti. La normale agglutinazione deve essere differenziata dall'impilamento delle emazie dovuto alla diluizione in soluzione fisiologica. Nel gatto, solitamente, la formula leucocitaria è normale.⁷

La diagnosi di anemia emolitica immuno-mediata viene formulata più efficacemente, ma non esclusivamente, evidenziando gli anticorpi e/o il complemento a livello della membrana eritrocitaria. Nei casi iperacuti si ottiene un'agglutinazione in vitro, indicante la positività del test antiglobulinico diretto, mentre solitamente il test indiretto fornisce esito negativo poiché tutte le molecole anticorpali sono attivamente legate e non libere nel circolo ematico. Nelle forme croniche (III, IV e V), sia il test diretto che quello indiretto possono dare risultato positivo poiché esistono anticorpi liberi. La forma acuta si trova in una situazione intermedia. Comunemente si verifica la positività del test antiglobulinico diretto per le IgG e la positività di quello indiretto per le IgM.

In medicina veterinaria, si tende ad utilizzare sieri costituiti da associazioni di IgG, IgM e complemento. Nell'eseguire il test antiglobulinico diretto o indiretto, il titolo riscontrato fornisce una stima della gravità dell'affezione e consente di tracciarne il decorso. Quando si rileva un titolo negativo in presenza di un quadro clinico sospetto, possono rendersi necessarie ulteriori diluizioni per escludere l'esistenza di un forte effetto di prozona. In una rassegna di 32 casi, soltanto il 60% presentava risultati positivi al test antiglobulinico diretto.¹³ In un altro studio,

lo stesso test risultava positivo solo nel 67% dei 65 casi esaminati.¹⁴

Il test antiglobulinico diretto può fornire risultati falsamente negativi in caso di eluizione delle IgM alle alte temperature, errori tecnici oppure presenza di quantità insufficienti di IgG sulla superficie eritrocitaria (per cui due molecole non sarebbero sufficientemente vicine per poter essere unite dall'antisiero).^{5,13}

I risultati falsamente positivi possono derivare da fenomeni mediati da apteni oppure da alterazioni delle membrane dovute al passaggio degli eritrociti attraverso un tessuto neoplastico.⁷

È stato ipotizzato che gli autoanticorpi potrebbero essere evidenziati con maggiore facilità utilizzando metodi di rinforzo.^{5,13,15,16}

Inizialmente, per mezzo del test antiglobulinico diretto, un ricercatore diagnosticò la presenza di anemia emolitica immuno-mediata nel 34,8% dei 34 pazienti esaminati.¹³

Mediante il rinforzo con antisieri capaci di legare le IgG, il test fornì risultato positivo nell'88,2% dei casi. Appare chiaro che l'uso di antisieri specifici da parte dei laboratori diagnostici accresce la sensibilità del test antiglobulinico diretto.

Gli autoanticorpi isotipici (IgG e IgM) migliorerebbero le capacità diagnostiche e consentirebbero di identificare l'immunoglobulina specifica legata all'eritrocita accrescendo la precisione della prognosi.

Midollo osseo

Il prelievo di un campione di midollo osseo mediante aspirazione offre diversi vantaggi; infatti, consente di escludere altre cause di emolisi, prevedere il tipo di risposta dell'organismo e confermare la diagnosi. Gli aspirati di midollo osseo si rivelano particolarmente utili quando si sospetti l'esistenza di anemia emolitica immuno-mediata nonostante la risposta non rigenerativa evidenziata dall'emogramma.

Gli aspirati facilitano la diagnosi di aplasia eritrocitaria, dovuta a difetti di maturazione o a distruzione dei precursori su base immunitaria, inoltre indicano la presenza di tutti i precursori delle emazie in assenza di iperplasia eritroide (comune nei casi cronici di lunga durata). È opportuno eseguire un esame di immunofluorescenza con anticorpi anti-eritrociti per confermare la diagnosi.

Nel cane, la maggior parte dei casi di anemia emolitica immuno-mediata è accompagnata da segni di risposta midollare.¹⁷ Le possibili sedi di aspirazione comprendono l'area craniodorsale prossimale dell'omero, la fossa trocanterica femorale, le coste e le ali dell'ileo. La prima sede sembra fornire maggiori garanzie di sicurezza e facilità di esecuzione poiché consente di applicare una pressione diretta in caso di coesistenti anomalie dell'emostasi. Il quadro clinico può suggerire il ricorso ad altri esami, fra cui aspirati o biopsie linfonodali, aspirati splenici e aspirati o biopsie epatiche.

Cause di anemia emolitica

Cause immuno-mediate

Isoeritrolisi neonatale
Incompatibilità trasfusionale
Idiopatiche
Anemia emolitica autoimmune
Linfosarcoma
Leucemia linfocitaria
Lupus eritematoso sistemico
Reticolosarcoma
Endocardite batterica subacuta
Istoplasmosi
Glomerulonefrite
Infezioni sostenute dal virus della leucemia felina

Difetti eritrocitari intrinseci

Carenza di piruvato chinasi
Condrodisplasia (nell'alaskan malamute)
Porfria congenita felina
Carenza di fosfofruttochinasi
Carenza di metemoglobina riduttasi
Anemia idiopatica con corpi di Heinz
Anemia con acantocitosi (epatopatia)
Stomatocitosi
Ellisocitosi

Parassiti eritrocitari

Babesia
Anaplasma
Haemobartonella
Ehrlichia
Piroplasmosi
Citauzoonosi

Cause batteriche

Leptospirosi acuta
Endotossiemia
Clostridium perfringens o *C. haemolyticum*

Cause chimiche

Fenotiazinici
Cipolle, segale, acero
Blu di metilene
Acetaminofene
Fenazopiridina cloridrato
Rame
Semi di ricino
Grave ipofosfatemia
Filariosi cardiopolmonare (sindrome della vena cava)
Benzocaina topica
Epatite cronica progressiva (nel Bedlington terrier)
Propiltiouracile
Sulfonamide
Eparina
Cefalosporine
Dipirone
Chinidina

Cause microangiopatiche

Coagulazione intravascolare disseminata
Emangiosarcoma
Vasculite
Filariosi cardiopolmonare
Babesia

Cause nell'uomo

Ipersplenismo
Mycoplasma
Mononucleosi infettiva
Chinidina
Penicillina
Traumi conseguenti allo jogging
Valvole cardiache artificiali

Affezioni croniche (positività del test di Coombs)

Broncopolmonite (raro)

CHIARIMENTI SULLE METODICHE TERAPEUTICHE

Lo sviluppo di uno schema terapeutico efficace e sicuro richiede la conoscenza dei meccanismi, del grado di sicurezza e degli effetti collaterali dei metodi di trattamento. Uno schema completo può prevedere l'uso di immunodepressori, fra cui glucocorticoidi, antimetaboliti e chemioterapici, immunomodulatori, rappresentati da androgeni, gamma globuline, immunoforesi oppure dell'intervento chirurgico. L'adozione di appropriate misure di supporto, fra cui la terapia trasfusionale e la fluidoterapia, aumenta le probabilità di successo del trattamento.

La somministrazione di glucocorticoidi in dosaggi immunodepressivi spesso costituisce la prima linea di difesa. Comunemente, questi farmaci rappresentano il trattamento di elezione nei pazienti umani e si rivelano efficaci nell'80% dei casi di anemia emolitica immuno-mediata di tipo caldo¹ e nel 70% dei bambini.³ (Poiché nel bambino l'emolisi acuta spesso riconosce una causa primaria, sono

Tabella 1	
Agenti utilizzati nel trattamento dell'anemia emolitica immuno-mediata	
Farmaco	Dosaggio
Prednisone	Da 1 a 2 mg/kg per via orale due volte al giorno
Ciclofosfamide	50 mg/m ² somministrati nei primi quattro giorni della settimana oppure a giorni alterni
Azatioprina	2 mg/kg per via orale ad intervalli di 24 ore
Vincristina	Da 0,50 a 0,75 mg/m ² per via endovenosa alla settimana, ripetere secondo necessità
Immunoglobulina G purificata	Da 0,4 a 0,5 mg/kg/giorno per 5 giorni
Danazolo	5 mg/kg per via orale tre volte al giorno

sufficienti trattamenti steroidei di breve durata). La somministrazione di glucocorticoidi spesso fornisce una risposta rapida grazie agli effetti svolti da questi farmaci sul meccanismo di *clearance*.⁵ Esiste un'interferenza con i recettori Fc (frammento costante dell'IgG) e quelli C_{3b} situati sulla

Tabella 2

Potere immunodepressivo relativo dei glucocorticoidi

Farmaco	Potere immunodepressivo	Dosaggio immunodepressivo (mg/kg/giorno)
Prednisone o prednisolone	1	Da 2,2 a 4,4
Metilprednisolone	2	Da 1,8 a 5,3
Desametazone	5	Da 0,3 a 0,9
Betametazone	Da 5 a 8	Da 0,30 a 0,86

superficie dei macrofagi^{10,12,18,19} e una minore affinità dell'immunoglobulina per la membrana eritrocitaria.^{18,19}

Questo processo può essere seguito sul piano clinico nel corso della somministrazione poiché, spesso, il titolo del test antiglobulinico indiretto si innalza mentre quello del test diretto diminuisce, indicando un aumento delle immunoglobuline libere. La possibilità che questi farmaci riducano la produzione anticorpale è discutibile.^{5,12} In alcuni bambini, stabilizzati unicamente mediante la somministrazione di glucocorticoidi, è stata rilevata una diminuzione sia degli anticorpi legati alle cellule che di quelli liberi. Questo fenomeno suggerisce che la terapia steroidea diminuisca effettivamente la produzione di immunoglobuline^{3,19} e riduca l'affinità e la clearance dei recettori macrofagici di membrana per la porzione Fc delle IgG e per il C_{3b}.

La clearance operata dai macrofagi nei confronti degli eritrociti rivestiti superficialmente da IgG e C_{3b} migliora quando questi elementi siano presenti in quantità maggiori. I soggetti con grandi quantità di IgG e C_{3b} a livello dei singoli eritrociti dimostrano maggiore resistenza agli effetti dei glucocorticoidi.¹⁹ Inoltre, esiste un sinergismo fra i recettori macrofagici per le IgG e quelli per il C_{3b}. Le cellule rivestite da entrambi gli elementi presentano periodi di sopravvivenza ridotti. Pertanto, nei casi cronici in cui generalmente vengono coinvolte le IgG, la prognosi è più riservata.

È stato dimostrato che l'uso dei glucocorticoidi incrementa l'intensità della risposta dei reticolociti¹¹ attraverso un meccanismo di sensibilizzazione del midollo osseo. Anche il numero degli sferociti può aumentare, probabilmente a causa della ridotta affinità dei recettori macrofagici e dell'incompleta eritrofagocitosi. Infine, i glucocorticoidi inibiscono le vie di amplificazione della catena di reazioni del complemento.^{20,21}

La somministrazione di prednisone alla dose di 1 mg/kg due volte al giorno è una valida scelta iniziale. Nei casi più resistenti possono rendersi necessari dosaggi pari a 2 mg/kg ad intervalli di 12 ore (Tab. 1). Quali alternative, si dimostrano adatti il prednisolone, il metilprednisolone e il desametazone; i dosaggi di questi ultimi devono essere stabiliti sulla base delle relative capacità immunodepressive (Tab. 2). La posologia deve essere ridotta lentamente, procedendo per stadi di due-quattro settimane. I dosaggi dei glucocorticoidi non devono essere diminuiti fino a quando non sia stata notata una risposta terapeutica,⁶ che può richiedere da una a quattro settimane.

Nell'uomo, il trattamento con glucocorticoidi non si considera fallito prima che siano trascorse quattro o sei set-

timane.^{5,22} Negli animali, raramente è possibile disporre di un periodo di tempo altrettanto lungo; infatti, i soggetti colpiti vengono portati alla visita in fasi avanzate del processo patologico e, poiché quest'ultimo spesso è di tipo idiopatico, tendono ad essere resistenti alla terapia. Nei casi sicuramente cronici e clinicamente stabili è ragionevole effettuare una somministrazione di prova della durata di un mese. A causa degli effetti collaterali dei glucocorticoidi, alcuni ricercatori ne mettono in dubbio l'uso nei bambini considerando che, in età pediatrica, l'anemia emolitica immuno-mediata spesso assume carattere auto-limitante.²³

L'uso di prodotti chemioterapici più aggressivi, fra cui gli antimetaboliti, generalmente viene riservato ai pazienti umani resistenti agli steroidi o che richiedono dosi troppo elevate degli stessi oppure a quelli che non rispondono alla splenectomia.² È necessario evitare di utilizzare questi prodotti nei bambini, nei quali l'affezione tende ad essere auto-limitante. Questi farmaci sono stati associati a fenomeni di mutagenesi e allo sviluppo di disordini neoplastici.^{10,24-27} Tuttavia, poiché negli animali l'affezione solitamente è di tipo idiopatico, è giustificabile istituire precocemente una terapia con antimetaboliti nelle forme iperacute e acute, soprattutto in presenza di fenomeni di autoagglutinazione. L'uso degli antimetaboliti generalmente riduce la produzione cellulare e richiede circa due settimane per rendersi efficace⁵, a seconda del farmaco utilizzato e del metodo di somministrazione adottato. Nell'uomo, questo tipo di terapia comporta dei vantaggi nel 50% dei casi.⁵ In assenza di miglioramenti dopo un periodo di prova di tre-quattro mesi, le somministrazioni vengono sospese.

La ciclofosfamide è un agente alchilante che agisce legando le catene di DNA delle cellule in fase di mitosi e di riposo. Nell'ambito del trattamento dell'anemia emolitica immuno-mediata, questo agente 1. inibisce le risposte immunitarie primitive e secondarie, 2. riduce l'attività linfonodale di intrappolamento degli antigeni, 3. inibisce le risposte infiammatorie locali e 4. porta a morte le cellule reattive all'antigene a lenta proliferazione e quelle stimulate a rapida proliferazione.²⁸ Generalmente vengono utilizzate dosi di 50 mg/m², somministrate nel corso dei primi quattro giorni della settimana oppure a giorni alterni. Le precauzioni comunemente adottate comprendono la somministrazione del farmaco al mattino limitandola, se possibile, a quattro-sei settimane.

L'azatioprina è una tiopurina che viene metabolizzata a 6-mercaptipurina e compete con l'adenina nella sintesi degli acidi nucleici. Ne deriva la formazione di filamenti di acidi nucleici privi di senso e di attività che impediscono la divisione delle cellule in rapida proliferazione. Questo fenomeno inibisce notevolmente la sintesi anticorpale linfocita-dipendente primaria e secondaria.^{28,29} Normalmente si adotta un dosaggio di 2 mg/kg al giorno per via orale.

La vincristina è un alcaloide estratto dalla vinca che inibisce la formazione del sistema di microtubuli citoplasmatici e quella del fuso mitotico, impedendo in tale modo la divisione cellulare e riducendo l'attività di fagocitosi. Questa sostanza stimola anche la divisione dei megacariociti e svolge pertanto un ruolo di primaria importanza nel trattamento della trombocitopenia immuno-mediata quando siano presenti megacariociti a livello midollare.

Secondo i dati della letteratura, l'effetto immunodepressore svolto dalla vincristina è pari a un decimo o ad un centesimo di quello della ciclofosfamide. Il dosaggio della vincristina è compreso fra 0,50 e 0,75 mg/m² alla settimana, secondo necessità.

Nell'uomo, quale alternativa ai farmaci citotossici, è stata utilizzata con notevole successo la gamma-globulina (IgG purificata). Il meccanismo d'azione è sovrapponibile a quello dei glucocorticoidi poiché viene bloccato il recettore Fc dei macrofagi.^{14,30} È stato dimostrato che la gamma-globulina favorisce la funzione del C₈, induce la soppressione aspecifica della biosintesi di linfociti B policlonali,³¹ inibisce la reazione infiammatoria e blocca l'assunzione delle cellule rivestite di anticorpi da parte della milza.^{32,33}

L'immunoglobulina G sembra dotata di effetti a breve e a lungo termine e garantisce un controllo temporaneo in attesa di altre metodiche.^{14,30} Questo agente è molto sicuro³¹ ed è stato utilizzato con successo (spesso dopo il fallimento della sola terapia steroidea) per trattare pazienti con anemia emolitica immuno-mediata, trombocitopenia immuno-mediata oppure entrambe le condizioni associate.^{2,14,21,30} Il dosaggio consigliato dell'immunoglobulina G è compreso fra 0,4 e 0,5 mg/kg/giorno per 5 giorni, ripetendolo secondo necessità.^{5,30,34} La possibilità di utilizzare l'IgG umana negli animali per terapie a breve termine merita alcune ricerche; tuttavia, bisogna considerare gli effetti collaterali dovuti all'impiego di una proteina estranea e il costo del prodotto.

Danazolo

Il danazolo è un androgeno di sintesi derivato dal pregnenolone e viene utilizzato con frequenza crescente. Sembra che questa sostanza riduca la produzione di IgG, la quantità di IgG legate alle cellule e soprattutto di complemento legate alle cellule indica chiaramente che il meccanismo d'azione principale del danazolo è l'inibizione dell'attivazione del complemento e del suo legame alle membrane cellulari.^{10,24,35,36} Il farmaco inoltre modula lo squilibrio fra linfociti T soppressori e linfociti T helper segnalato nel corso della trombocitopenia immuno-mediata.³⁷ Analogamente ad altri farmaci, il danazolo è in grado di svolgere un effetto clinico influenzando il numero di recettori Fc presenti sulla superficie macrofagica.¹⁰

Secondo i dati segnalati, l'insorgenza degli effetti prodotti dal danazolo è lenta. L'aumento del valore ematocrito si rende evidente soltanto dopo una-tre settimane dall'inizio della terapia e il legame del C₃ non si riduce in misura significativa prima che siano trascorsi da uno a tre mesi.¹⁰ È stato ipotizzato che questo ritardo sia attribuibile ad un effetto esercitato dal farmaco sui precursori midollari oppure su una popolazione di monociti o macrofagi assente dai tessuti periferici fino alla completa maturazione.¹⁰ Pertanto, in casi appropriati, il danazolo viene somministrato in associazione con glucocorticoidi. Quando le condizioni del soggetto si siano stabilizzate, i dosaggi dei glucocorticoidi vengono ridotti gradualmente.^{10,35} Gli effetti collaterali segnalati in 15 pazienti umani comprendevano irsutismo, caduta dei capelli e nervosismo (indipendenti uno dall'altro).¹⁰ Il danazolo non sembra associa-

to a segni di iperadrenocorticismismo mentre può provocare un aumento notevole delle masse muscolari se utilizzato per periodi prolungati (superiori a sei mesi). Nell'uomo, il farmaco viene somministrato alla dose di 200 mg tre volte al giorno, mentre nel cane la dose iniziale è pari a 5 mg/kg tre volte al giorno. I dosaggi devono essere ridotti gradualmente e il farmaco deve poter essere somministrato singolarmente.

Plasmaferesi

Un'altra possibilità terapeutica è la rimozione dell'anticorpo dannoso. Questo obiettivo può essere raggiunto ricorrendo alla plasmaferesi, che consente di separare il plasma dagli eritrociti che vengono successivamente reintrodotti nell'organismo. Il plasma può essere ulteriormente filtrato attraverso un agente immunoassorbente, quale la proteina A stafilococcica.^{38,39} Questo processo elimina dal plasma la maggior parte degli anticorpi e degli immunocomplessi consentendone la reinoculazione nel soggetto. Questa tecnica si è dimostrata valida; tuttavia se ne consiglia l'applicazione soltanto nei casi refrattari ad altre terapie.²³ Favorendone la diffusione e migliorandone la conoscenza, la plasmaferesi potrebbe risultare vantaggiosa quale modalità terapeutica precoce. I risultati migliori si ottengono con le IgM che, essendo presenti nel siero soprattutto in forma libera ed essendo dotate di grandi dimensioni, vengono allontanate con maggiore facilità.⁵ Alcune strutture veterinarie sono dotate delle attrezzature necessarie ad eseguire la plasmaferesi in caso di necessità.

Trasfusioni

La tecnica trasfusionale può avere finalità terapeutiche e di supporto; tuttavia la sua applicazione è controversa e dipende in ultima analisi dai segni clinici rilevati, dai possibili effetti collaterali e dalla gravità dell'anemia. È opportuno ricorrere alla trasfusione per prevenire l'aumento del valore ematocrito quando si preveda un aggravamento della condizione oppure quando si rendano necessarie misure di sostegno e l'apporto di ossigeno in attesa che la terapia abbia effetto. Un notevole abbassamento del valore ematocrito può essere associato a fenomeni di ipossia tissutale periferica. Questo stato può aggravare le alterazioni metaboliche del soggetto in seguito alla comparsa di vasocostrizione periferica, ipossia tissutale locale e acidosi metabolica.

È indispensabile utilizzare il tipo di sangue più compatibile. Gli eritrociti lavati e confezionati offrono maggiori garanzie poiché consentono di non somministrare il complemento^{3,5,12}, limitando la distruzione eritrocitaria. Nelle affezioni di tipo freddo, prima della trasfusione è opportuno scaldare il sangue.⁵ L'inoculazione di sangue può provocare aumenti della produzione anticorpale, emolisi, danni renali indotti dall'emoglobina,²³ sovraccarico di volume e soppressione midollare.¹ La trasfusione è comunque indispensabile qualora si ritenga sia necessaria per mantenere in vita il soggetto.⁴⁰ Negli animali, la tolleranza verso l'abbassamento del valore ematocrito sembra diminuire con il procedere delle trasfusioni. La coesistenza

o il possibile sviluppo della coagulazione intravascolare disseminata rendono necessario l'uso di sangue intero, plasma fresco o plasma fresco congelato per reintegrare la quota di antitrombina III e di fattori della coagulazione.

Splenectomia

L'utilità della splenectomia è stata a lungo oggetto di controversie.¹⁷ La milza può essere asportata per numerose valide ragioni, tuttavia la decisione finale è sicuramente di ordine clinico e può dipendere dalle percentuali di successo ottenute in passato. Attraverso la splenectomia vengono rimossi direttamente i linfociti B e i macrofagi attivati, riducendo la produzione anticorpale e attenuando i danni e la distruzione eritrocitaria.^{5,18} Questa procedura consente di diminuire i dosaggi degli steroidi e prolunga il tempo disponibile all'azione dei farmaci immunosoppressori.¹⁰ Chiaramente, la splenectomia non è indicata nelle forme fredde dell'affezione in cui la distruzione eritrocitaria si svolge a livello epatico.^{1,18} Con il progredire della patologia sostenuta da agglutinine a caldo, i macrofagi splenici attivati e i linfociti B migrano verso il fegato che diventa la sede principale di distruzione delle emazie. Si può concludere pertanto che, nelle forme calde, la splenectomia è vantaggiosa soltanto nelle fasi precoci⁴¹ oppure quale ultima risorsa per ottimizzare le misure di controllo dell'affezione.

Nell'uomo, i risultati della splenectomia sono variabili. Nei due terzi circa dei pazienti sottoposti all'intervento si osserva la remissione completa o parziale della condizione.³ In uno studio, la splenectomia consentì di ottenere miglioramenti in condizioni di bassi titoli di IgG, positività del test antiglobulinico diretto, assenza di IgM, splenomegalia e sequestro degli eritrociti marcati con cromo-51.⁴² In questo studio, la splenectomia viene consigliata nei soggetti che non presentano alcuna risposta dopo quattro-sei settimane di terapia steroidea ad alto dosaggio e nelle ricadute.⁴² Generalmente, seguendo questi criteri si ottengono risposte favorevoli (rappresentate da remissione o maggiore facilità di controllo dell'affezione) in percentuale compresa fra 50% e 80%.^{1,3,9,10, 30,42} Alcuni specialisti in ematologia affermano che, nell'uomo, la splenectomia facilita il trattamento medico anche in assenza di splenomegalia iniziale.^a Negli animali sono stati segnalati risultati analoghi.^{17,43}

CONSIDERAZIONI TERAPEUTICHE DI BASE NELLA SPECIE CANINA

Negli animali, la terapia attualmente in uso è variabile e in larga parte basata sulla segnalazione di casi isolati. Il trattamento iniziale prevede l'uso di glucocorticoidi. La scelta del desametasone piuttosto che del prednisone è di ordine soggettivo e non accademico.

A parità di dosaggio, il primo farmaco svolge un'attività immunodepressiva da cinque a otto volte superiore rispet-

to al secondo.¹⁷ Nell'ambito dell'anemia emolitica immuno-mediata, il 5-10% dei casi è refrattario agli steroidi.² Se nell'arco di tre-quattro giorni non compare alcuna risposta oppure se nel corso della prima visita si osserva una netta agglutinazione in vitro (come nei sottotipi iperacuti I e II) la terapia deve essere integrata con agenti citotossici immunodepressori.^{1,2,7,8} La ciclofosfamide viene utilizzata più comunemente dell'azatioprina, ma senza una ragione specifica.¹

È consigliabile impiegare la vincristina quando coesista una condizione di trombocitopenia, in presenza di emorragie e quando l'aspirato midollare metta in evidenza elementi megacariocitici.^{1,4} Nelle forme croniche e stabili dell'anemia emolitica immuno-mediata è indicato un trattamento con glucocorticoidi di durata pari a quattro settimane prima di applicare altre modalità terapeutiche. In cani che non presentavano alcuna risposta⁷ è stata eseguita la splenectomia per facilitare il controllo dell'affezione e ottenerne la remissione.¹⁷ Alcune segnalazioni isolate riferiscono i successi ottenuti negli animali utilizzando la ciclosporina e il danazolo per il trattamento dell'anemia emolitica immuno-mediata e della trombocitopenia immuno-mediata.

Attualmente, in tutti i soggetti con anemia emolitica immuno-mediata e/o trombocitopenia immuno-mediata gli autori iniziano il trattamento con prednisolone e danazolo, associandovi ciclofosfamide e/o vincristina in caso di necessità.

Nell'ambito della terapia di mantenimento, il danazolo consente di abbassare i dosaggi del prednisolone oppure di escluderlo completamente. Questo metodo permette di evitare la comparsa degli effetti a lungo termine degli steroidi. Fino al momento attuale non è stato osservato lo sviluppo di alcuna epatopatia conseguente alla somministrazione di danazolo. Poiché molti casi di anemia emolitica immuno-mediata sono associati a processi di coagulazione intravascolare disseminata, nel corso delle fasi acute dell'affezione viene somministrata eparina per via sottocutanea (100 U/kg ad intervalli di sei ore). La somministrazione endovenosa di liquidi in dosi che superano di 1-1,5 volte quelle di mantenimento consente di mantenere il volume ematico circolante, favorisce la vascularizzazione renale e impedisce il ristagno all'interno dei vasi, condizione che provocherebbe lo sviluppo di coagulazione intravascolare disseminata. L'integrazione con sangue intero fresco eparinizzato viene eseguita sulla base delle indicazioni cliniche.

Negli animali, i trattamenti consigliati sono basati sulle terapie adottate nell'uomo e sull'esperienza individuale. La natura dell'affezione rende difficile l'attuazione di uno studio in prospettiva; inoltre manca un modello animale appropriato. Pertanto, le indicazioni terapeutiche applicabili in campo veterinario mantengono un carattere teorico e raccolgono dalla letteratura umana soltanto gli elementi pratici ed economicamente accettabili.

Il decorso dell'anemia emolitica immuno-mediata non è prevedibile.

Non esiste alcun test che consenta di formulare una prognosi definitiva. Le possibili previsioni sono basate su esperienze precedenti (casi e risposte). Nella specie umana, il decorso dell'affezione differisce fra adulto e bambino. In quest'ultimo^{13,36} si osservano un maggior

^a Lewis B: Osservazioni personali, Alta Bates Hospital, Berkeley, CA, 1992.

numero di casi acuti transitori.^{13,17,46} Questa differenza probabilmente riguarda il ruolo delle infezioni recenti nella forma che colpisce i bambini, mentre negli adulti sono più diffuse le forme idiopatiche.

Nell'uomo, le forme acute transitorie, che nel 76% dei casi sono mediate dal complemento,⁴⁶ sembrano rispondere maggiormente alla terapia conservativa e possono anche andare incontro a remissione spontanea.^{30,41,46} Questi eventi possono rendere conto del minore tasso di mortalità rilevato nel bambino (28%, rispetto al 70% dell'adulto).^{3,5,41,46} In età pediatrica, le forme croniche protratte (che nel 78% dei casi coinvolgono IgG pure o IgG miste o il complemento) evidentemente seguono un decorso diverso, risultano più resistenti al trattamento e comportano una prognosi meno favorevole rispetto alle forme acute transitorie.

Dal punto di vista prognostico, è stato osservato che il riscontro di quantità limitate di reticolociti, la leucopenia e la negatività del test antiglobulinico indiretto possono a loro volta costituire reperti sfavorevoli.³ Nel bambino, non è stata notata alcuna correlazione fra la quantità di immunoglobuline G di superficie presenti all'esordio dell'affezione e la prognosi definitiva.⁴¹

Nel cane e nel gatto, i casi ascrivibili ai sottotipi I e II dell'anemia emolitica immuno-mediata solitamente comportano la prognosi peggiore.⁷ Al momento attuale, l'indicatore prognostico migliore, acquisito dalla letteratura umana, può essere l'esecuzione separata dei test anticomplementare e immunoglobulinico. Questi ultimi potrebbero consentire di identificare le diverse forme dell'affezione nel cane. Inoltre, utilizzando antisieri specifici si potrebbero ottenere titoli maggiormente positivi che permetterebbero di monitorare la risposta alla terapia.

Nell'uomo, le cause di morte comprendono embolia polmonare, infezioni, grave anemia, infarto miocardico, necrosi tubulare acuta ed emorragie intracraniche.³ In uno studio retrospettivo condotto su 55 casi osservati nel cane, poco più del 50% dei soggetti sopravvisse. Fra questi, la percentuale più elevata era affetta unicamente da anemia emolitica immuno-mediata, il gruppo intermedio presentava condizioni di trombocitopenia immuno-mediata e il gruppo più ridotto comprendeva soggetti colpiti da entrambe le affezioni.¹

Le cause della morte erano rappresentate, oltre che dall'affezione primaria, da coagulazione intravascolare disseminata, endocardite, linfadenite, anemia, epatite o glomerulonefrite.

CONCLUSIONE

L'anemia emolitica immuno-mediata presenta ancora molti aspetti sconosciuti. Numerose domande richiedono ancora una risposta. Esistono parallelismi fra le forme pediatriche progressive e croniche e i casi idiopatici riscontrati nell'adulto?

La presenza di quantità sufficienti di IgG e di C_{3b} sulla superficie eritrocitaria giustifica una prognosi grave e/o una terapia aggressiva? È possibile approfondire le conoscenze patogenetiche migliorando la capacità di studio delle cellule C₄ e C₈? Esistono altri fattori prognostici individuabili negli stadi precoci dell'affezione? Infine, queste

informazioni trovano applicazioni pratiche per l'identificazione e il trattamento degli animali a rischio e la prevenzione della malattia?

Note sugli Autori

Il Dr. Stewart è Diplomate dell'American College of Veterinary Internal Medicine ed è internista presso lo Special Veterinary Services nel 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. Dodds JW: Autoimmune hemolytic disease and other causes of immune-mediated anemia. An overview. *JAAHA* 13:437-441, 1977.
3. Park D, Yang C, Kim K: Autoimmune hemolytic anemia in children. *Yonsei Med J* 28:313-321, 1987.
4. Williams DA, Maggio-Price L: Canine idiopathic thrombocytopenia: Clinical observations and long-term followup in 54 cases. *JAVMA* 185:660-663, 1984.
5. Schreiber A, Frank M: Acquired hemolytic anemias, in Samter M (ed): *Immunological Diseases*, ed 4. Boston, Little, Brown & Co, 1988, pp 1120-1174.
6. 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.
7. Werner LL: Coomb's positive anemias in the dog and cat. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2(2):96-101, 1980.
8. Harvey JW: Canine hemolytic anemias. *JAVMA* 176:970-974, 1980.
9. Buchanan GR, Boxer LA, Nathan DC: The acute and transient nature of idiopathic immune hemolytic anemia in children. *J Pediatr* 88:780-783, 1976.
10. Schreiber AD, Chein P, Tomaski A, Cines DB: Effect of danazol in immune thrombocytopenia purpura. *N Engl J Med* 316:503, 1987.
11. Liesveld JL, Rowe JM, Lichtman MA: Variability of the erythropoietic response in autoimmune hemolytic anemia. Analysis of 109 cases. *Blood* 69:820-826, 1987.
12. 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.
13. Jones RE: Use of an enzyme indirect antiglobulin test for the diagnosis of autoimmune hemolytic anemia in the dog. *Res Vet Sci* 41:187-190, 1986.
14. Hilgartner NW, Bussel J: Use of intravenous gamma globulin for the treatment of autoimmune neutropenia of childhood and autoimmune hemolytic anemia. *Am J Med* 83:25-29, 1987.
15. Gilliland BC: Coombs-negative hemolytic anemia. *Semin Hematol* 13:267, 1967.
16. Gilliland BC, Baxter E, Evan RS: Red-cell antibodies in acquired hemolytic anemia with negative antiglobulin serum tests. *N Engl J Med* 285:252, 1971.
17. Feldman BF, Handagama P: Splenectomy as adjunctive therapy for immune-mediated thrombocytopenia and hemolytic anemia in the dog. *JAVMA* 187:617-619, 1987.
18. 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.
19. Schreiber AD: Clinical immunology of the corticosteroids. *Prog Clin Immunol* 3:103-114, 1977.
20. Weiler JM, Packard BD: Methyl prednisolone inhibits alternative and amplification pathways of complement. *Inflammation* 38:122-126, 1982.
21. Kurtzberg J, Friedman HS: Efficacy of intravenous gamma globulin in autoimmune-mediated pediatric blood dyscrasias. *Am J Med* 83:4-9, 1987.
22. Cines DB, Schreiber AD: Immune thrombocytopenia: Use of a Coomb's antiglobulin test to detect IgG and C3 on platelets. *N Engl J Med* 300:106-111, 1979.

23. Heidemann SM, Sarnaik SA, Sarnaik AP: Exchange transfusion for severe autoimmune hemolytic anemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 9:302-304, 1987.
24. Ahn YS, Harrington WJ: Danazol therapy for autoimmune hemolytic anemia. *Ann Intern Med* 102:298-301, 1985.
25. Meadows AT, Robison LL, Sather H: Potential long-term toxic effects in children treated for acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 321:26, 1 1989.
26. Menkes JH: Treatment related leukemia. *N Engl J Med* 322:52-55, 1990.
27. Seiber SM, Adamson RH: Toxicity of antineoplastic agents in man: Chromosomal aberrations, antifertility effects, congenital malformations, and carcinogenic potential. *Adv Cancer Res* 22:57-155, 1975.
28. Pedersen NC: Therapy of immune-mediated diseases, in Kirk RW (ed): *Current Veterinary Therapy. VIII*. Philadelphia, WB Saunders Co, 1983, pp 443-337.
29. Barnhart ER: *Physician's Desk Reference*. Oradel, NJ, Medical Economics Co, 1986.
30. Nuss RN, Wang W: Intravenous gamma globulin for thrombocytopenia in children with Evans syndrome. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 9:164-167, 1987.
31. 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.
32. Stiehm ER: New uses for intravenous immune globulin. *N Engl J Med* 325(2):1123-1125, 1991.
33. Buckley RH, Schiff RI: The use of intravenous immune globulin in immunodeficiency diseases. *N Engl J Med* 325(2): 110-117, 1991.
34. Bussel JB, Cunningham-Rundles C, Hilgartner MW: Intravenous treatment of autoimmune hemolytic anemia with gammaglobulins. *Pediatr Res* 12:237A, 1984.
35. Manoharan A: Danazol therapy in patients with immune cytopenia. *Aust NZ J Med* 17:613-614, 1987.
36. West SG, Johnson SC: Danazol for the treatment of refractory autoimmune thrombocytopenia in systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med* 108:703-706, 1988.
37. Mylvaganam R, Ahn YS, Harrington WJ, Kim CI: Immune modulation by danazol in autoimmune thrombocytopenia. *Immunol Immunother* 42:281-287, 1987.
38. Muroi K, Sasaki R, Miura Y: The effect of immunoabsorption therapy by a protein A column in patients with thrombocytopenia. *Semin Hematol* 26:10-14, 1989.
39. Guthrie TH, Oral A: Immune thrombocytopenia purpura: A pilot study of staphylococcal protein A immunomodulation in refractory patients. *Semin Hematol* 26(Suppl 1):3-9, 1989.
40. Cohen AR: Hematologic emergencies, in Fleisher G, Ludwig S (eds): *Textbook of Pediatric Emergency Medicine*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1988, pp 521-526.
41. Schulman I: Idiopathic (immune) thrombocytopenic purpura in children: Pathogenesis and treatment. *Pediatr Rev* 516:173-178, 1983.
42. Dameshek AC, Ellis LD: Hematologic indications for splenectomy. *Surg Clin North Am* 55:253-275, 1975.
43. Jans HE, Armstrong DJ, Price GS: Therapy of immune mediated thrombocytopenia—Retrospective study of 15 dogs. *J Vet Intern Med* 4(9):4-7, 1990.
44. Cain GR, Cain JL, Turrel JM, et al: Immune-mediated hemolytic anemia and thrombocytopenia in a cat after bone marrow transplantation. *Vet Pathol* 25:161-162, 1988.
45. Bloom JC, Meunier LD, Thiem PA, Sellers TS: Use of danazol for treatment of corticosteroid-resistant immune-mediated thrombocytopenia in a dog. *JAVMA* 194:778, 1989.
46. 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.