

ANEMIAS HEMOLITICAS POR AUTOINMUNIDAD Y POR MECANISMOS INMUNES INDUCIDOS POR MEDICAMENTOS

Mario Chaves, Bruno Lomonte**, German F. Sáenz*, Oscar Agüero****

Resumen

En la presente revisión sobre anemias hemolíticas por autoinmunidad (AHA) y por trastornos inmunes inducidos por drogas o medicamentos, se han considerado aspectos etiológicos, fisiopatológicos, una metodología analítica-diagnóstica y en forma sucinta, las características clínicas y el tratamiento. Se hace especial hincapié en las dos variedades de AHA, tanto en su etiología como en el comportamiento térmico de los anticuerpos incriminados en los procesos hemolíticos. En las anemias hemolíticas inducidas por drogas se describen grupos principales, de acuerdo al mecanismo de acción de los medicamentos responsables de la respuesta inmune anormal, y por ende, de la repercusión hematológica. Con una serie de aportaciones de la literatura más reciente, se revisan otros alcances de estos trastornos, con especial énfasis en los mecanismos y en los determinantes de enfermedad inmunohemolítica (Rev. Cost. Cienc, Méd. Dic. 1981; 2(2):).

Introducción

En los últimos años, gracias a la extensa investigación inmunohematológica que se ha venido desarrollando en diversos centros científicos del mundo, se ha logrado obtener un mayor conocimiento sobre las anemias hemolíticas, y gran parte de ello proviene del progreso en las ciencias básicas, que en lo particular ha dado como consecuencia una mejor comprensión de las características fisicoquímicas del eritrocito. Además, se ha logrado compenetrar más en el conocimiento de las propiedades básicas de los antígenos y los anticuerpos, y de sus interacciones, lo que ha permitido la aparición de técnicas inmunológicas que día con día son más refinadas.

En el presente trabajo intentamos presentar una visión general de los trastornos hemolíticos mediados por autoanticuerpos y por anticuerpos inducidos por medicamentos con base en los conocimientos actuales. Se han considerado los aspectos teóricos relativos a la etiología, la fisiopatología del proceso, los aspectos prácticos relativos a una secuencia analítica lógica para su diagnóstico y, superficialmente, el cuadro clínico en general y la terapéutica.

En esta breve revisión se ha dividido el estudio de las anemias hemolíticas mediadas por anticuerpos en dos secciones: A) la anemia hemolítica autoinmune, con sus variantes; B) las anemias hemolíticas inmunes inducidas por drogas.

A) ANEMIA HEMOLITICA AUTOINMUNE (AHA)

Generalidades:

En las anemias hemolíticas autoinmunes (AHA), alguna alteración en el sistema inmunológico del individuo hace que se produzcan anticuerpos contra antígenos de sus propios

* Cátedra de Hematología, Departamento Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, Hospital San Juan de Dios; CIHATA.

** Instituto Clodomiro Picado, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

*** Banco de Sangre, Hospital San Juan de Dios.

eritrocitos. Como consecuencia, hay un aumento en la tasa de destrucción de los glóbulos rojos del paciente por intervención del sistema inmunológico.

Esta enfermedad fue la primera en que la autoinmunidad pudo ser reconocida claramente como factor etiológico de ciertas patologías, y fue así como se introdujo el término "autoinmune" en el lenguaje médico. Aún hoy, permanece como la más claramente definida de las enfermedades autoinmunes, en el sentido de que se puede demostrar la unión del anticuerpo a la superficie de la célula blanco (30, 39, 44). La evidencia de autoinmunidad dirigida contra los eritrocitos se demuestra usualmente por la prueba directa de antiglobulina, o por las que miden autoanticuerpos en el suero del paciente demostrables por varios métodos, o por ambas (44).

Las primeras descripciones de este trastorno aparecieron en la literatura francesa durante la primera década de este siglo. En 1938, Dameshek y Schwartz (12, 13) demostraron que en ciertos pacientes existía una prueba de fragilidad osmótica anormal, esferocitosis y hemolisis séricas anormales. La aparición posterior de la técnica de Coombs, dio base para grandes avances en este campo. Se han venido caracterizando a los anticuerpos responsables, e introduciendo técnicas inmunológicas y serológicas cada vez más refinadas, pero aún hay grandes controversias sobre la manera en que estas inmunoglobulinas se enlazan a los glóbulos rojos del paciente (44).

Las AHA se clasifican de dos maneras: etiopatogénicamente, en primarias o secundarias a un trastorno subyacente, y serológicamente, según la reactividad térmica de los anticuerpos comprometidos. Estos conceptos se aclaran en los párrafos que siguen (24, 44):

1. En base a la presencia o ausencia de desórdenes significativos coexistentes:

a. IDIOPATICAS PRIMARIAS:

Aquellas en que la enfermedad hemolítica domina el cuadro clínico, y no se acompaña de otra enfermedad aparente.

b. SINTOMÁTICAS SECUNDARIAS:

Aquellas en la que el proceso hemolítico está estrechamente relacionado a alguna enfermedad bien caracterizada.

2. En base a las características serológicas del proceso autoinmune:

a. POR AUTOANTICUERPOS CALIENTES (Ac-Calientes):

La máxima actividad de los autoanticuerpos se da a la temperatura de 37°C, o sea la corporal.

b. POR AUTOANTICUERPOS FRIOS (Ac-Fríos):

La máxima actividad de los autoanticuerpos ocurre a temperaturas entre los 2 y los 4°C.

El tipo de AHA por Ac-caliente ocurre tanto en los casos idiopáticos como en los secundarios; lo mismo es aplicable al tipo de Ac-fríos. Entre los trastornos que se han asociado a enfermedad hemolítica autoinmune de tipo secundario se conocen infecciones, procesos malignos proliferativos, quiste dermoide de ovario y enfermedades autoinmunes (5, 49). La Tabla I señala las enfermedades involucradas en estos trastornos.

A pesar de que el significado de tal diversidad de enfermedades asociadas con AHA no es claro en términos de comprensión de la etiología y patogénesis de la misma, es útil el conocimiento de estas asociaciones en la clínica, ya que se puede sugerir la presencia del trastorno secundario en los pacientes con estas condiciones (44).

La AHA por Ac-calientes es un hecho clínico más frecuente que el tipo Ac-fríos. Ambos tipos ocurren en todas las razas, sin predilección especial por ninguna, aunque la mayoría de casos estudiados corresponde a caucásicos (30, 34, 35, 36, 44, 49). Ha habido casos de reportes de familias afectadas por esta enfermedad, lo que sugiere que puede

TABLA I
ENFERMEDADES ASOCIADAS A AHA SECUNDARIA (49)

1. Ac-calientes:

- Leucemia linfocítica crónica (LLC).
- Linfoma.
- Tumores no linfo-reticulares.
- Enfermedades autoinmunes, principalmente lupus eritematoso diseminado.
- Infecciones virales.

2. Ac-fríos:

- Infección por *Mycoplasma pneumoniae*.
 - Infección por virus de la mononucleosis infecciosa.
 - Neoplasia linfo-reticular.
-

existir una base genética relacionada, pero hasta el momento esto no se puede afirmar con certeza, ya que se carece de suficiente información (35, 44, 49). Este es un punto que merece mayor estudio, tanto a nivel de epidemiología, como de experimentación en animales. La AHA ocurre en ambos sexos, aunque es más frecuente en mujeres, en especial la variedad idiopática. Todas las edades son afectadas por esta enfermedad, y ocurre una mayor frecuencia del tipo secundario en pacientes mayores de 50 años; el tipo idiopático se distribuye uniformemente en todas las edades (30, 34, 35, 36, 44, 49). La frecuencia para los tipos idiopático y secundario ha sido reportada aproximadamente igual por algunos autores como Dacie (10) y Dausset y Colombani (14), pero otros han venido obteniendo resultados disímiles, demostrando un evidente predominio de casos secundarios del orden del 70 por ciento (44), y del 81 por ciento (34).

Etiología y patogénesis
AHA Tipo Ac-calientes

La etiología de la AHA abarca muchas teorías sobre la autoinmunidad en general, cuya compleja discusión rebasaría los alcances de este trabajo. Sin embargo, resumidamente se puede decir que las teorías se pueden agrupar dentro de dos grandes corrientes principales. La primera sugiere que el cambio fundamental en la patogénesis ocurre en la membrana del eritrocito, que forma un nuevo antígeno, o hace evidente un antígeno intrínseco de manera anormal; y esto induce un estímulo al sistema inmunológico que es esencialmente normal, para responder a ese antígeno alterado (31, 40, 44).

El segundo grupo de teorías se basa en lo opuesto, colocando la anormalidad en el propio sistema inmunológico. Esto implica que la homeostasis inmune se rompe por pérdida de la capacidad de autorreconocimiento de las células inmunológicamente competentes, bajo circunstancias en que los antígenos eritrocíticos son esencialmente normales (31, 40, 44). Estas corrientes hipotéticas básicas poseen una gran cantidad de ramificaciones alternativas, o subteorías. Entre estas destaca —como atractiva para la explicación etiológica de esta enfermedad—, la posibilidad de intervención de un agente exógeno de tipo infeccioso, que originaría una respuesta inmune cruzada contra antígenos normales, por parte de un sistema inmune normal (40, 49). Por ejemplo, se ha encontrado que algunas cepas de

Mycoplasma sp. poseen determinantes antigénicos similares al antígeno—I de los eritrocitos humanos. Hay suficiente evidencia de reactividad cruzada en otras formas de enfermedad autoinmune para que esta hipótesis sea mantenida entre las más atrayentes (49).

En contraste con el limitado conocimiento que se tiene de la etiología de las AHA, se ha logrado una mejor comprensión de los mecanismos de destrucción de glóbulos rojos en que intervienen autoanticuerpos. Aunque algunos componentes del complemento particularmente C₃ y C₄, pueden ser encontrados adheridos a la superficie en las AHA de tipo Ac-calientes, parece ser que el mecanismo clásico de hemólisis por fijación de complemento no es el fundamental para la destrucción “in vivo”. La fragmentación de los glóbulos rojos y la eritrofagocitosis son los procesos que parecen participar con mayor relevancia (44). La fragmentación es el mecanismo principal de daño y destrucción del eritrocito en casi todos los estados hemolíticos congénitos o adquiridos (17, 22).

La hemólisis por fragmentación depende de una serie de fuerzas físicas y funciones fisiológicas; el eritrocito es convertido en un microesferocito que es removido rápidamente de la circulación, principalmente en la microcirculación esplénica. Además, al haber el esferocito perdido superficie de membrana en relación a su contenido, puede ser inestable osmóticamente aún a la tonicidad normal del plasma, lo que conlleva a hemólisis coloidosmótica intravascular. Las fuerzas físicas que intervienen en el mecanismo de fragmentación no han sido del todo esclarecidas. Se sabe que al recubrirse el eritrocito con anticuerpos, complemento, o ambos, puede favorecerse una interacción célula-célula por reducción del potencial zeta (que normalmente causa la repulsión adecuada entre células). Cuando las células que se han aproximado en exceso son separadas por el trauma circulatorio (principalmente en el de la microcirculación), pequeñas cantidades de membrana bajo la forma de fragmentos de mielina, son desprendidas de la superficie (29). De igual o mayor importancia puede ser la interacción de los eritrocitos sensibilizados con células fagocíticas libres o fijas del sistema retículo endotelial. Ya han sido demostrados los receptores que poseen los fagocitos que reaccionan específicamente con IgG, complemento o ambos (23, 27, 44). Las subclases de inmunoglobulinas (IgG) involucradas en la AHA no están uniformemente representadas. Engelfriet (16) determinó que en el 80 por ciento de los pacientes la IgG₁ sola o en combinación con otras subclases, era el anticuerpo responsable; la IgG₃ le seguía con un 15 por ciento de los casos; en algunos pocos casos en que se halló IgG₂ e IgG₄ no existía anemia hemolítica manifiesta. El grado de hemólisis de los pacientes no está asociado al subtipo de inmunoglobulina involucrado, pues dentro de una misma subclase se encuentra variabilidad en un cuadro hemolítico. Por lo contrario, sí se encuentra una relación directa entre la cantidad de anticuerpo presente sobre la membrana del glóbulo rojo y el grado de hemólisis (42). La eritrofagocitosis es un hallazgo muy frecuente en pacientes con AHA activa y es fácilmente observable en las células fagocíticas del bazo, y ocasionalmente en médula ósea, nódulos linfáticos, e hígado (44). Se ha visto que a altas concentraciones de Ac, las células del sistema retículo-endotelial hepático (células de Kupffer) inician la función fagocítica, aumentando el proceso (2). El tipo de antígeno, su concentración en la membrana, su disposición y movilidad, son los factores que probablemente influyen en la inducción de la eritrofagocitosis. Recientemente se ha encontrado otro posible mecanismo de hemólisis, mediada por los linfocitos cito-tóxicos circulantes dependientes de anticuerpos (39).

A pesar de que la sensibilización de los eritrocitos por inmunoglobulina o complemento parece ser una parte necesaria del mecanismo hemolítico de la AHA, también es aparente que otros factores hasta ahora desconocidos están relacionados con el inicio y la desaparición de la hemólisis y su severidad. Esto es sugerido por la observación frecuente

de pacientes que poseen una prueba de antiglobulina directa fuertemente positiva, sin que haya destrucción aumentada de glóbulos rojos. Una rápida hemólisis puede empezar entonces de repente, sin que se presenten hallazgos serológicos significativamente alterados. De allí que dos pacientes con cuadros serológicos comparables pueden hemolizar a muy diferente tasa. Finalmente, las remisiones pueden aparecer abruptamente, de nuevo, sin que haya cambios serológicos significativos (44).

AHA Tipo Ac-fríos

Las mismas teorías sobre autoinmunidad descritas anteriormente son aplicables a este trastorno, el cual abarca también casos idiopáticos y secundarios; es sin embargo menos frecuente que el tipo de anticuerpos calientes. Los anticuerpos son principalmente IgM, pero se han descrito IgA (47). Aunque se han implicado agentes infecciosos como causantes o inductores de estos autoanticuerpos reactivos a 4°C, tales como los provocados por *Mycoplasma pneumoniae*, el virus de la mononucleosis infecciosa y otros virus, no es bien comprendido cómo estos agentes estimulan la producción de aglutininas frías (44). La hemólisis inducida por estas aglutininas es generalmente menos severa, aunque hay excepciones de casos graves (24). Sólo los pacientes con altos títulos de aglutininas frías (> 1:1000) desarrollan una hemólisis activa (44) debido a que estas aglutininas presentan un aumento de amplitud térmica que la de las aglutininas frías normales, provocando una reacción con el glóbulo rojo a las temperaturas a la que circula la sangre en los dedos, orejas, nariz y en áreas de exposición al frío (37). El mecanismo de destrucción no es conocido aún en su totalidad, pero se sabe que incluye la participación de componentes líticos del complemento, así como fagocitosis y secuestro de eritrocitos aglutinados, fundamentalmente en el hígado (24, 35, 45). Se ha demostrado que dicho secuestro es facilitado por la presencia de la fracción C₃ b, que queda después de que la IgM se libera al retornar el glóbulo a la temperatura de 37°C debido a que los macrófagos del hígado y del bazo poseen un receptor para dicha fracción (2). También es observable eritrofagocitosis en los fagocitos esplénicos de estos pacientes (44).

Algunos autores sugieren que el componente más importante del mecanismo de destrucción es el secuestro de eritrocitos aglutinados en el hígado (24) mientras que otros le adjudican un papel más importante a la lisis eritrocítica mediada por complemento (35, 49). Es interesante el hecho de que en la forma idiopática las aglutininas frías parecen ser de origen monoclonal (a juzgar por estudios estructurales y electroforéticos) por lo que se considera que representan un tipo especial de discrasia de células plasmáticas. En cambio, los casos de esta enfermedad post-infecciones son de origen policlonal, sugiriendo una reacción hacia un estímulo infeccioso subyacente (49).

En la Tabla II se señalan algunas de las características diferenciales (serológicas y fisicoquímicas) entre la AHA mediada por Ac-fríos y calientes.

Cuadro clínico

En la anemia hemolítica autoinmune mediada por Ac-caliente o IgG, el cuadro hemolítico es muy variable, desde una hemólisis inaparente que sólo se evidencia por estudios de supervivencia eritrocítica, hasta una hemólisis fulminante de grave peligro (24, 49). La duración es también variable, y es sobre todo de carácter crónico. Los síntomas incluyen los comúnmente relacionados con anemias, y en pacientes con cuadro leve o moderado, hay fatiga, disnea y palpitación. Si el proceso es fulminante y agudo puede llevar a postración tipo "shock" y semi-coma. A veces hay ictericia. En casos muy severos puede darse franca

TABLA II
PROPIEDADES DE LOS ANTICUERPOS ASOCIADOS CON ANEMIA INMUNOHEMOLITICA (24)

PROPIEDADES	AC-CALIENTES	AC-FRIOS
Clase de inmunoglobulina	Usualmente IgG	Usualmente IgM
Subclases de cadena pesada	IgG ₁ e IgG ₃	
Coefficiente de sedimentación	7 S	19 S
Peso molecular	160,000	1,000,000
Temperatura óptima	37°C	4°C (0-10°C)
Activación del complemento	No o poco	Si, pero la secuencia raramente se completa
Agutinación de eritrocitos normales	No o poco	Si (títulos 1:300)
Prueba Coombs directa con:		
Anti-suero humano	++++	+/+++
Anti-IgG	++++	+/++
Anti-IgM	0	0
Anti-C ₃	0/++	+/+++
Anti-C ₄	0/+	+/++
Prueba Coombs indirecta con:		
Anti-suero humano	0/+++	0/++*
Anti-IgG	0/++++	0
Anti-IgM	0	0
Anti-C ₃	0	0/++++*
Avidez de fijación	+/++++	Trazas/+ (a 30°C)
Especificidad antigénica	No específica (probablemente contra Ag-Rh)	I-i (también H. M. N.)
Número anticuerpos por glóbulo rojo	10 ³ a 10 ⁵	10 ⁵ ó más
Frecuencias de etiologías:		
Idiopáticas	55-65%	30-40%
Inducidas por drogas	20-25%	1-5%
Enfermedad linfoproliferativa	10-15%	15-20%
<i>Mycoplasma sp.</i>	0%	25-35%
Otros	5-10%	5-10%

* Prueba negativa a menos que se incube las células en frío con suero fresco rico en complemento.

0-++++ = grado de reacción o de positividad.

hemoglobinemia. Físicamente se nota palidez, ictericia, y en casos muy graves, cianosis de labios y nariz. La esplenomegalia es moderada y ocurre en dos terceras partes de los pacientes; también se halla hepatomegalia (44, 49).

En las AHA en que intervienen autoanticuerpos fríos o IgM, las manifestaciones clínicas incluyen acrocianosis, que es causada por la aglutinación intracapilar de eritrocitos en aquellas áreas corporales expuestas al enfriamiento; palidez, ictericia, esplenomegalia, y el cuadro general de anemia, aunque con frecuencia todos esos cuadros no son graves. A pesar de que los disturbios vasculares oclusivos son potencialmente reversibles (por disociación de los agregados al aumentar la temperatura) pueden llevar a un daño tisular crónico, tal como gangrena (49).

Diagnóstico

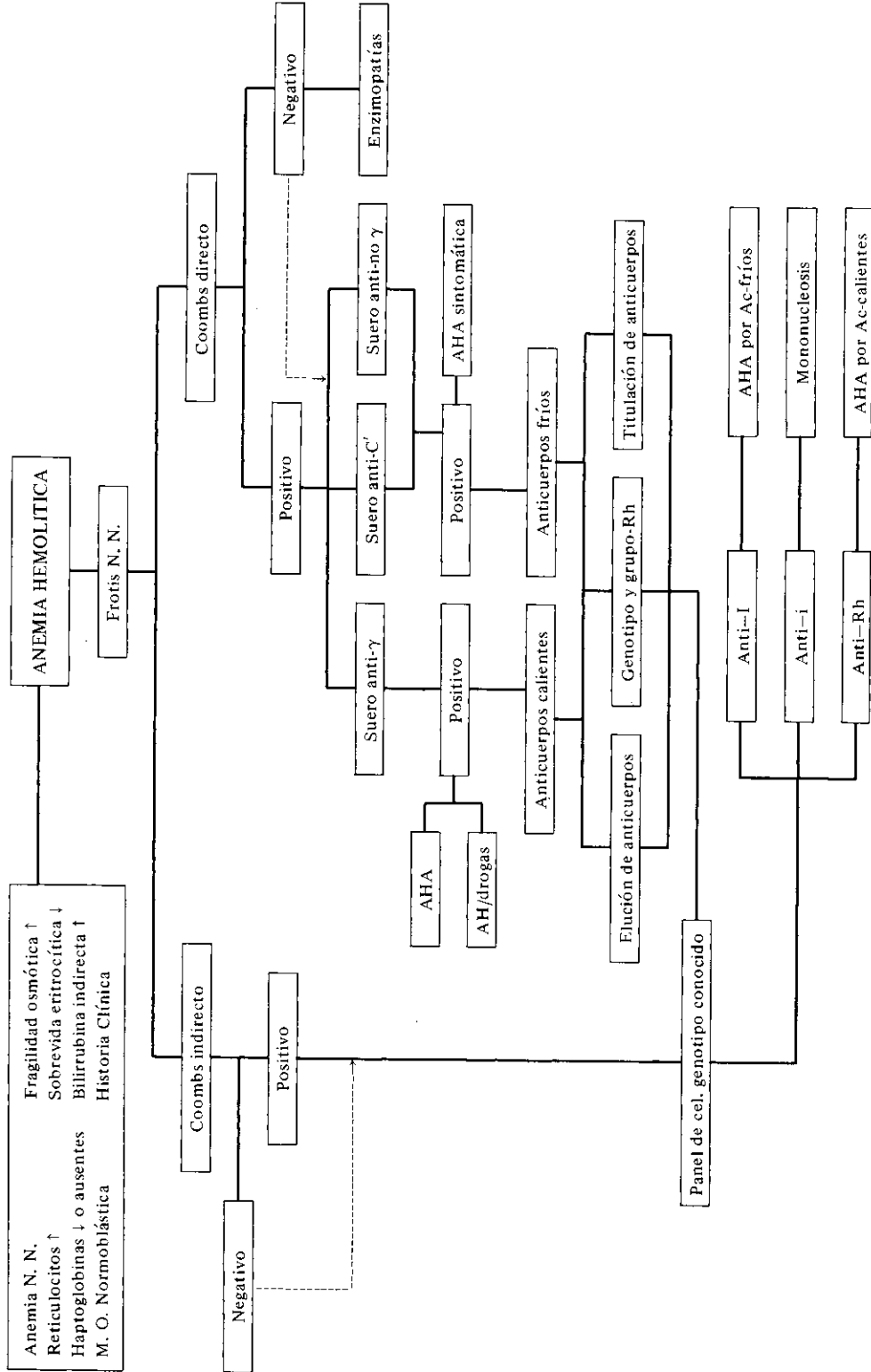
La marcha analítica para el diagnóstico de la AHA se ha señalado en el Esquema I. Las observaciones iniciales que conducen a la sospecha clínica de este tipo de anemia incluyen la presencia de anemia normocítica disminuida, bilirrubina indirecta aumentada y haptoglobinas disminuidas o ausentes. En general un frotis de sangre periférica revela la presencia de microesferocitos, basofilia difusa, poiquilocitosis y eritroblastos. A veces puede presentarse autoaglutinación. Las plaquetas pueden estar normales o ligeramente disminuidas (5, 11, 15). Aunque la reticulocitosis es un hallazgo casi constante, existen reportes de casos con episodios de reticulocitopenia, a pesar de tener una médula ósea intensamente eritroide (9), lo cual sugiere eritropoyesis ineficaz. El estudio se inicia con pruebas de Coombs directa e indirecta con sueros polivalentes; si alguna de las dos (o ambas) son positivas, se debe proceder a la caracterización del anticuerpo (ya sea IgG o IgM) y a su identificación a través de antisueros específicos de Coombs anti-IgG, anti—C', anti-no gamma, y con células de genotipo conocido (15). Es importante tomar en consideración que existen casos en que las pruebas de Coombs son negativas (19, 20). Chaplin (7) menciona de un 2 a 4 por ciento de casos de marcada anemia hemolítica y pruebas negativas, debido al bajo número de anticuerpos que recubren el eritrocito, y que no pueden ser detectados por el método debido a su baja sensibilidad. Se ha observado que los reactivos comúnmente usados para la prueba de Coombs no son capaces de aglutinar glóbulos con menos de 500 moléculas por célula (2). Gilliland (19, 20) demostró que pacientes con AHA y la prueba de Coombs negativa tenían un rango de 70 a 434 moléculas por célula. El hecho está en que se puede aumentar la sensibilidad de la prueba agregando sustancias como la polivinilpirrolidona (7), tratamiento con enzimas o con medios altamente proteicos, así como con el polibreno (bromuro de hexadimetrino) (26). De no usarse estas alternativas técnicas no se puede descartar el diagnóstico con base en un resultado negativo obtenido con la prueba de Coombs rutinaria.

Terapéutica

El tratamiento en ambas entidades varía, por lo que es muy importante llegar a un buen diagnóstico del tipo de anticuerpo involucrado. En la anemia hemolítica mediada por Ac-calientes Murphy y LoBuglio (32) establecen como tratamientos de elección los corticosteroides, la esplenectomía y la quimioterapia de inmunosupresión. Con los corticosteroides, según los autores mencionados, el 60 a 80 por ciento de los casos mejoran, y la mayoría (60 a 70 por ciento) llegan a una completa remisión o su enfermedad se controla con bajas dosis de mantenimiento. Sin embargo del 30 a 40 por ciento son resistentes a los esteroides o requieren altas dosis de ellos, por lo que son firmes candidatos a la esplenectomía, la cual es benéfica en un 50 a 60 por ciento de los casos, con disminución

ESQUEMA I

MARCHA ANALITICA PRACTICA PARA EL DIAGNOSTICO DE AHA (de Elizondo, J. et al. (15), ligeramente modificado)



del grado de hemólisis y de las dosis de mantenimiento (4). Aproximadamente un 10 por ciento de los casos son resistentes a la terapéutica descrita; por lo que se debe utilizar la inmunosupresión, que produce una respuesta clínica favorable en un 50 a 60 por ciento de los casos (32).

En los casos secundarios de AHA el tratamiento involucra la eliminación del agente causal, como serían tumores, drogas y otros problemas.

En el caso de la AHA mediada por anticuerpos fríos, cuyo principal mecanismo de hemólisis es intravascular con aclaramiento hepático, la esplenectomía y los corticosteroides no surten ningún efecto sobre la tasa de aclaramiento (1, 4). Una terapéutica con inmunosupresores se debe utilizar en estos casos (32). Es obvio que al paciente se le debe instruir a fin de que evite la exposición al frío.

Tanto para Ac-fríos como para Ac-calientes puede requerir una terapéutica de soporte a base de oxígeno, transfusiones sanguíneas muy bien seleccionadas (17, 41) así como ácido fólico, vitaminas y plasmaféresis para disminuir el título de anticuerpos (2).

Pronóstico

El pronóstico de las formas secundarias de AHA radica en la naturaleza de la enfermedad primaria. Para la forma idiopática el pronóstico no es bueno. Al ser esta última una enfermedad de evolución crónica con múltiples remisiones y recaídas, los pacientes usualmente mueren por fenómenos tromboembólicos o infecciones relacionadas con el tratamiento inmunosupresor, La mortalidad en estos casos es del 36 a 54 por ciento (32, 35).

B) ANEMIA HEMOLITICA INDUCIDA POR DROGAS

Generalidades:

La administración de medicamentos puede provocar la aparición de una gran variedad de anormalidades hematológicas, entre ellas la anemia hemolítica inmune por drogas (AHIPD). Del 16 al 18 por ciento de las anemias hemolíticas adquiridas corresponden a este tipo (18). En 1954, Harris (21) demostró que algunos compuestos químicos podían causar anemia hemolítica-Coombs positiva, al observar a un paciente tratado con estibofeno, droga usada para el tratamiento de la esquistosomiasis. Posteriormente, se fueron encontrando otros compuestos capaces de ocasionar lo mismo, aunque mediante diferentes mecanismos (24, 33, 44).

Debido a su bajo peso molecular, muchos medicamentos sólo pueden actuar como inmunógenos al unirse con macromoléculas de los tejidos, por ejemplo proteínas. Este complejo se denomina conjugado hapteno-proteína, y es capaz de inducir la formación de Ac específicos, pues el producto químico sencillo (no conjugado) no es capaz de inducir dicha síntesis (33). Se presentan en la Tabla III los principales medicamentos que se han implicado en anemias hemolíticas mediadas por Ac. En la actualidad se han clasificado estas anemias en cuatro grupos, según el mecanismo de acción de la droga.

1. Mecanismo tipo hapteno (modelo estibofeno):

El estibofeno es representativo de esta clase, aunque varias drogas pertenecen a este grupo, como quininas, quinidina, sulfonamidas, derivados de la sulfanilurea, de la fenacetina, PAS, y otras. Estas drogas actúan uniéndose a una proteína plasmática, estimulando así el sistema inmune. Los Ac formados reaccionan contra el hapteno en el plasma, y estos complejos antígeno-anticuerpos (Ac—Ag) se depositan sobre los eritrocitos. Dichos complejos activan el complemento tanto sobre el eritrocito como en el plasma.

TABLA III
MEDICAMENTOS QUE SE HA COMUNICADO PRODUCEN RESULTADOS
POSITIVOS EN LAS PRUEBAS DIRECTAS DE ANTIGLOBULINAS Y
ANEMIA HEMOLITICA (33)

Estibofeno (Fuadin)
Quinidina
Acido para-aminosalicílico
Fenacetina
Penicilinas (penicilina G, ampicilina, meticilina)
Insecticidas clorados que contienen hidrocarburos (toxafeno, heptaclor, dieldrín)*
Antihistamina (antistina, antazolina)*
Sulfonamidas (sulfapiridina, sulfametacina, sulfasomidina, sulfisoxazol)
Hidracina del ácido isonicotínico (isoniacida, INH)
Cloroprimacina (Thorazine)*
Aminopirina (Pyramidón)*
Dipirona*
α- metildopa
Melfalano (Alkerán)*
Cefalosporinas (cefalotina, cefaloridina, cefalexina, cefazolina)
Acido mefenámico (Ponstel, Ponstan)
Carbromal (Carbitral)*, **
Sulfanilureas (Cloropropamida, tolbutamida)
Insulina*
Levodopa
Rifampicina

* Un solo informe en la literatura.

** Se ha comunicado que el Carbromal produce pruebas de Coombs directa positivas, sin anemia hemolítica.

En este último caso el complemento activado se deposita también sobre los eritrocitos, cuyo papel sería el de "inocentes observadores". En ambos casos, los glóbulos rojos se aglutinan en presencia de un suero anti-C₃, lo que demuestra la participación del complemento en el proceso. Los Ac formados contra el hapteno pueden ser tanto IgM como IgG (21, 24, 33, 46).

2. Mecanismo tipo hapteno (modelo penicilina):

La penicilina es capaz de causar hemólisis inmune en pacientes a los que se les administra altas dosis por vía intravenosa. En este mecanismo la droga también actúa como hapteno, pero de una manera diferente del estibofeno. Se une covalentemente a algunas proteínas de la membrana del glóbulo rojo y entonces adquiere la antigenicidad necesaria para que se sintetice IgG dirigidas contra los glóbulos rojos recubiertos de penicilina. En algunos casos puede participar la IgM; sin embargo este Ac contra la penicilina

es por lo común inocuo (21, 24). Aún así, Bird *et al.* (3), en 1975, reportan el caso de un cuadro hemolítico agudo por Ac-IgM antipenicilina en un niño de tres años que estaba recibiendo tratamiento por vía oral.

Es importante señalar que el término “autoinmune”, es inapropiado para designar ambos modelos hapténicos de mecanismo de hemólisis (A y B) por el hecho de que los anticuerpos producidos son específicos contra un componente exógeno (la droga) y no contra componentes propios del glóbulo; así pues, el mecanismo debería ser propiamente designado como un proceso “inmune”. El mecanismo de remoción de los eritrocitos recubiertos con IgG es semejante al de la isoimmunización Rh₀, es decir, por secuestro en el sistema reticuloendotelial; el complemento no está involucrado en el mecanismo, y la hemólisis intravascular raramente ocurre (21, 25, 38). También es importante notar que el cuadro hematológico en ambos mecanismos tipo hapténico, es muy semejante al de la anemia hemolítica autoinmune (AHA) idiopática; así, muchos casos que han sido considerados como idiopáticos podrían ser atribuibles a compuestos exógenos inductores del problema, que aún no se han descubierto (24, 33, 46).

3. **Mecanismo desconocido** (modelo aldomet):

La droga antihipertensiva aldomet o alfa-metildopa, es la que con más frecuencia induce hemólisis inmune, y el total de casos reportados supera al total de todas las otras drogas descritas (45). Fue señalando su papel por primera vez en 1966 y, paradójicamente, su mecanismo de acción aún no ha sido esclarecido (18). Se sabe que los anticuerpos formados son IgG y que poseen especificidad para el antígeno del sistema Rh₀. La prueba de Coombs con suero anti-gamrna es positiva. El desarrollo de los Ac es dependiente de la dosis de droga, y con frecuencia se forman concomitantemente Ac como factor reumatoide, y antimucosa gástrica. El 30 por ciento de los pacientes tratados con alfa-metildopa desarrollan prueba de Coombs positiva (43), variando entre 11 por ciento y 40 por ciento según la dosis diaria (24). Sin embargo, menos del 1 por ciento de las personas con prueba de Coombs positiva desarrollan una anemia hemolítica significativa. Esto es debido a que los anticuerpos poseen una afinidad muy baja hacia los antígenos Rh₀ del eritrocito, menor que la de los isoanticuerpos anti-D, lo que causa que se detecten un gran número de pacientes con Coombs positivo, sin que muestren ningún cuadro hemolítico.

A diferencia de la alfa-metildopa (que es un análogo sintético), la L-dopa (compuesto fisiológico) no causa anemia hemolítica (24). Sin embargo, en 1971 y en un único reporte, se le describe como posible causante de este proceso hemolítico (18).

El cuadro inducido por el aldomet es idéntico al de la AHA idiopática, y el mecanismo por el cual ocurre posee obvia importancia para la comprensión de la génesis de la enfermedad autoinmune en general (45). Existen tres hipótesis sobre el modo de acción de esta droga. con observaciones aisladas que refuerzan una u otra idea (Cuadro 1).

Las tres hipótesis propuestas son aún muy debatidas. En contra de la primera se arguye que las proteínas plasmáticas (macromoléculas), con las que supuestamente se combinaría la droga, lo hacen apenas débilmente, y su unión es fácilmente dissociable, según los estudios de LoBuglio y Jandl (28). Por otro lado, los Ac antidroga reaccionan contra eritrocitos normales en ausencia de la droga, de lo que se deduce la reacción cruzada con antígenos del eritrocito normal. Otra evidencia en contra, es que si la droga actuara como un hapteno, se esperaría que ocurriera un tipo de respuesta secundaria en una persona reexpuesta al estímulo; en la práctica no se obtiene diferencia entre ambas respuestas, ni en tiempo de producción de Ac, ni en su cantidad o título (45). La segunda hipótesis implica que la droga altera la membrana del glóbulo (así como de otros

CUADRO I
RESUMEN DE LAS HIPOTESIS SOBRE MECANISMOS DE ANEMIA HEMOLITICA
INMUNE INDUCIDA POR DROGAS (45)

Antígeno	Anticuerpo	Método de producción de los Ac	Explicación de los hallazgos serológicos
1. La droga, o un metabolito de esta, más una macromolécula soluble.	Antidroga o antimetabolito de la droga.	Normal.	Reacción cruzada con Ag normales.
2. Droga o metabolito de esta, más Ag de eritrocito.	Anti-Ag del eritrocito modificado por la droga.	Normal.	Reacción cruzada con Ag normales del eritrocito.
3. Ag del eritrocito normal.	Anti-Ag del eritrocito.	La droga o un metabolito actúan sobre las células inmuno-competentes causando: 1) producción de clones anormales o, 2) depresión de clones anormales.	Reacción Ag-Ac normal.

tejidos en general) creando nuevos antígenos que provocan una respuesta inmune. Weigle, en 1965, (48) fue el primero en demostrar que la tolerancia inmunológica podría ser interrumpida (produciéndose autoinmunidad) si se inyectaban proteínas alteradas por hapteno (21, 39, 45). Se ha observado que los anticuerpos antidroga reaccionan muy poco o no reaccionan del todo con eritrocitos del tipo Rh-nulo o contra eritrocitos de especies que carecen del sistema Rh₀ (24). Es probable que la alfa-metildopa se combine con la membrana o penetre en el glóbulo rojo alterando así antígenos Rh₀. Sin embargo LoBuglio y Jandl (28) no pudieron hallar evidencias de que la droga se combine selectivamente con la membrana.

En cuanto a la tercera hipótesis, se postula que la droga no actúa sobre el eritrocito sino directamente sobre el sistema inmune, provocando la producción de clones anormales de células que no responden a los mecanismos homeostáticos normales, o que afecta los mecanismos de control represivos de manera que proliferen algunos clones autoinmunes. Esta hipótesis parte de la suposición de que los autoanticuerpos son normalmente producidos en pequeñas cantidades todo el tiempo, pero que las células que los producen son suprimidas o eliminadas; entonces la droga afectaría este proceso. Esta hipótesis con sus dos alternativas es muy difícil de demostrar o rechazar experimentalmente, y es por el momento enteramente especulativa (6,33, 45)

4. **Mecanismo de adherencia no específica** (modelo cefalotina):

Este mecanismo implica la adherencia inespecífica (no inmunológica) de una proteína sérica normal a la membrana eritrocítica luego de que la droga se une a dicha membrana. Como consecuencia, la prueba de Coombs para IgG y C₃ es positiva (24). La droga puede modificar la membrana celular de tal manera que la célula admita proteínas de modo no inmunológico. *In vitro*, los eritrocitos sensibilizados por la cefalotina, si se incuban en un plasma normal, se llega a recubrir de albúmina, IgG, IgA, IgM, Alfa-1-anti-tripsina, alfa-2-macroglobulina, C₃, C₄ y fibrinógeno (6, 21, 33). Por otro lado, se ha propuesto que la droga se combina con la membrana celular del eritrocito como lo hace la penicilina, y como son químicamente parecidas puede haber una reacción cruzada de los anticuerpos anti-penicilina con la cefalotina (18).

También se ha propuesto que la cefalotina se combina con la membrana del eritrocito de igual forma que la penicilina, pero que se producen anticuerpos específicos contra la cefalotina (21).

Cuadro clínico en la AHIPD

La hemólisis ocurre en presencia del medicamento. En la mayoría de los pacientes hay un cuadro de hemólisis intravascular agudo con hemoglobinemia y hemoglobinuria. Alta incidencia de fallo renal es observada, así como coagulación intravascular diseminada (49). Los hallazgos de laboratorio son muy similares a los de una AHA por anticuerpos calientes (45). Ocasionalmente puede acompañarse de leucopenia, trombocitopenia, o ambas. El cuadro hemolítico, como se ha mencionado, es muy variable en cuanto a su gravedad (44, 49).

El Cuadro 2 presenta una correlación entre los mecanismos de sensibilización de los glóbulos rojos y las características clínicas y de laboratorio de las anemias hemolíticas inducidas por drogas y mediada por anticuerpos.

Diagnóstico

Las observaciones iniciales en un posible paciente con este tipo de problema son básicamente las mismas que en AHA, e incluyen anemia normocítica normocromática, reticulocitosis,

CUADRO 2

CORRELACION ENTRE LOS MECANISMOS DE SENSIBILIZACION DE ERITROCITOS Y CARACTERISTICAS CLINICAS Y DE LABORATORIO EN ANORMALIDADES INMUNOHEMATOLOGICAS INDUCIDAS POR DROGAS (18)

MECANISMO	DRUGA PROTOTIPO	HALLAZGOS CLINICOS	VALUACION SEROLOGICA	
			Coombs directo	Identificación
I Formación de complejo inmune. (Droga y anticuerpo).	Quinidina. Fenacetina.	Pequeñas dosis de droga: hemólisis intravascular aguda es usual; fallo renal es común; ocasionalmente trombocitopenia.	Usualmente sólo componentes de C' se detectan pero IgG puede estar presente.	Droga + suero paciente + eritrocitos (especialmente tratados con enzimas) → hemólisis, aglutinación o sensibilización. Anticuerpo frecuentemente IgM y capaz de fijar C', eritrocitos eluidos a veces es no reactivo.
II Droga absorbida sobre la membrana del glóbulo reacciona con otros títulos de anticuerpos contra la droga en suero	Penicilina. Cefalosporinas.	Grandes dosis de penicilina (10 x 10 ⁶ unidades o más por día); otras manifestaciones de la alergia no se presentan; usualmente hemólisis intravascular subaguda, la penicilina es una de las comunes causas de anemias inmunohemolíticas inducidas por drogas, casos raros por cefalosporina.	Altamente positivo (IgG) cuando la anemia hemolítica está presente; raramente la sensibilización por C' está presente.	Droga cubre el glóbulo rojo + suero → aglutinación o sensibilización (rare hemólisis). Otros títulos se asocian con AH por IgG. Glóbulos rojos eluidos reaccionan sólo con la droga que cubre el glóbulo rojo.
III Modificación de la membrana. (Absorción no inmunológica de proteínas).	Cefalotina. Cefalosporinas.	No hay casos de anemia hemolítica cefalosporina inducida, causados por mecanismos no inmunológicos.	Positivo con antisuero para una variedad de proteínas del suero.	Droga cubre el eritrocito + suero → sensibilización o títulos de anticuerpos de bajo valor elución de glóbulo rojo es no reactivo.
IV Desconocido.	○ metildopa.	Hemólisis en un 0,8% de los pacientes que toman la droga por más de 3 meses, la anemia aumenta; es una de las causas más comunes de anemia inmune inducida por drogas.	Altamente positivo (IgG) cuando la anemia hemolítica está presente; sólo raramente se ven células sensibilizadas por el C'.	Glóbulos rojos con drogas son sensibilizados por el anticuerpo. El AC en suero y eluido es idéntico al encontrado en AHA por AC caliente. La relación con la droga no se demuestra <i>in vitro</i> .

haptoglobinas disminuidas o ausentes, fragilidad osmótica aumentada, autohemólisis aumentada, y sobrevida eritrocítica disminuida, con médula ósea de reacción normoblástica. Una electroforesis de hemoglobinas descarta la posibilidad de hemoglobinopatías (6, 15).

En estos pacientes juega un papel importante su historia clínica, a fin de investigar posibles medicamentos que se le han administrado, y su relación con el problema hemolítico. La prueba de Coombs (directa o indirecta) es de utilidad para afirmar el origen inmune del trastorno. Los diferentes tipos de anemia hemolítica inducida por medicamentos pueden clasificarse de acuerdo a pruebas de incubación con drogas, e investigación del Ac por métodos de elución. El Esquema 11 sintetiza la marcha analítica a seguir en el diagnóstico de esta enfermedad droga-inducida (6, 8, 11, 15).

Terapéutica

El tratamiento de elección en estos problemas se basa fundamentalmente en la eliminación de la terapéutica con las drogas que el paciente haya recibido, especialmente con aquellas de conocido efecto inductor de hemólisis inmune (ver Tabla III).

En pacientes en tratamientos con alfa metildopa puede no ser necesario discontinuarlo, si no hay evidencia de su estado de hemólisis severa, aunque las pruebas de Coombs sean positivas.

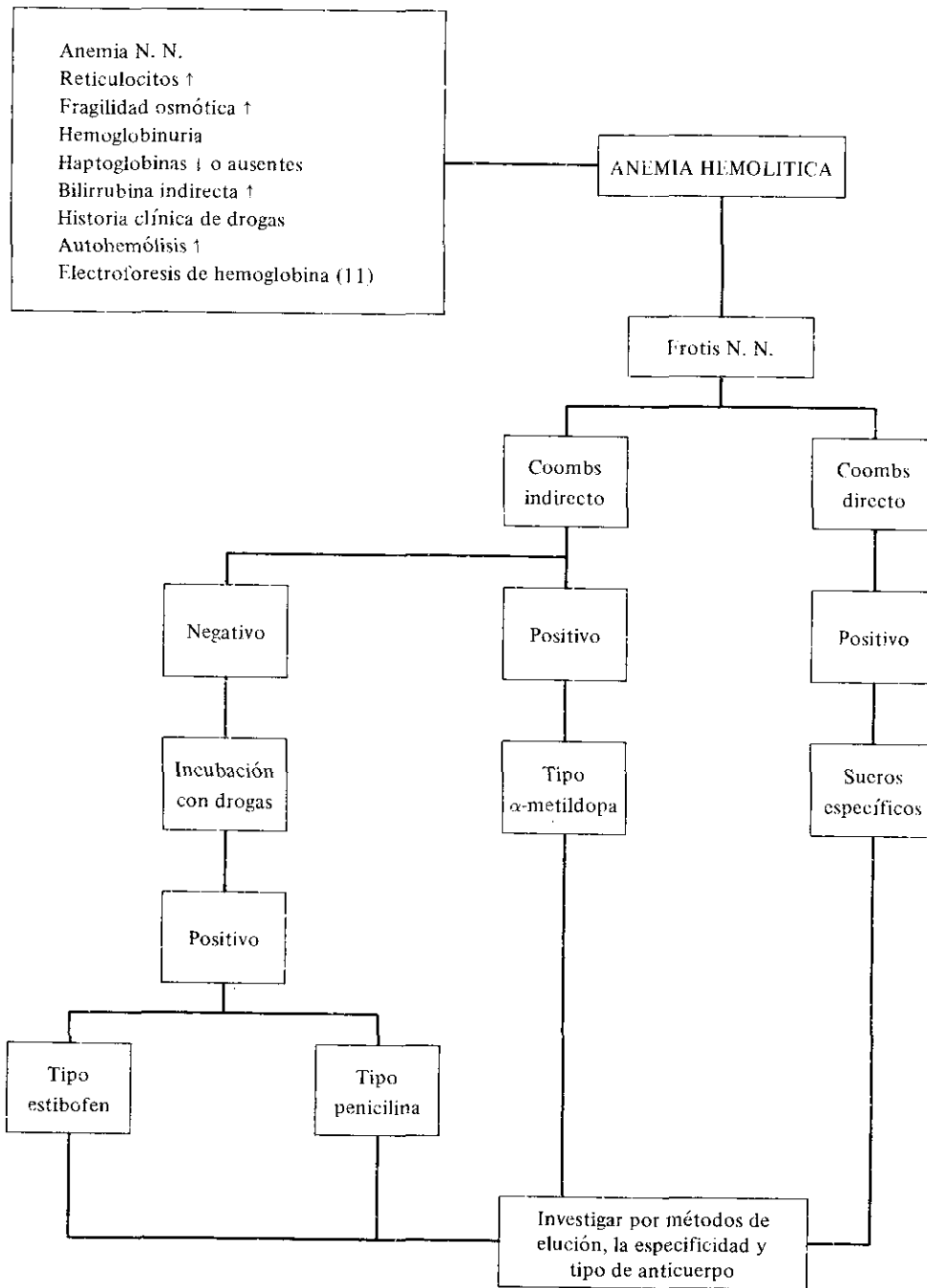
La terapéutica con esteroides es de poco valor en este grupo de pacientes, aunque en casos resistentes puede ser de beneficio, especialmente cuando la alfa metildopa está involucrada. Sin embargo hay que considerar el cuidado con que hay que manejar a los pacientes hipertensos si se les administra esteroides. La transfusión sanguínea puede ser empleada en algunos casos, especialmente en aquellos donde se hace necesario corregir una anemia severa (45, 49).

Conclusiones

El moderno estudio de las anemias hemolíticas mediadas por anticuerpos, ha permitido un adelanto bastante importante en relación a la comprensión de ciertos principios etiopatogénicos y fisiopatológicos. Sin embargo es mucho lo que permanece incógnito. Entre las mejor estudiadas se encuentran las anemias hemolíticas isoimmune, en las que aquella misma comprensión ha permitido aplicar ventajosos procedimientos de prevención y tratamiento del problema. En el campo de las anemias hemolíticas inducidas por drogas, también ha habido grandes avances con el entendimiento de los diversos mecanismos que pueden actuar, y su estudio ha alertado a los clínicos sobre posibles consecuencias de los tratamientos químicos que administra. Las anemias hemolíticas autoinmunes, son las que mayor número de interrogantes plantean, pues algunos de los principios en que aparentemente se basa su génesis y su etiopatogenia son aceptados por unos y debatidos por otros. Las evidencias confunden al investigador dedicado a este campo, pues en ocasiones son contradictorias. Gran parte del desconocimiento en este campo proviene del hecho de que las enfermedades asociadas a este problema (trastornos linfoprolerativos, neoplasias, infecciones virales) son muy poco comprendidas también, y a esto debe añadirse el relativamente escaso conocimiento sobre la autoinmunidad en general.

ESQUEMA II

MARCHA ANALITICA PARA EL DIAGNOSTICO DE AHA INDUCIDA POR DROGAS



ABSTRACT

This article reviews the ethiological and physiopathological aspects of autoimmune hemolytic anemias and those induced by drugs and related substances, as well as their clinical characteristics, the analytical procedures to follow for diagnosis and their treatment. Special emphasis is made on the autoimmune hemolytic anemia, in its two varieties, both from an ethiological point of view and according to the thermic behavior of the antibodies involved. In the drug-induced type of hemolytic anemias, the principal groups of disorders are described, according to their mechanisms of action of the drugs involved in this abnormal immune response, and the hematological consequences to expect.

Bibliografía

1. Atkinson, J. P., Schrieber, A. D., Frank, M. M. Effects of corticosteroids and splenectomy on the immune clearance and destruction of erythrocytes. *J. Clin. Invest.* 1979;52:1509—1517.
2. Axelson, J., LoBuglio, A. F., Immune hemolytic anemia. *Med. Clin. North Am.* 1980; 64:597— 606.
3. Bird, G. W., Mc Evox, M. W., Wingham, J. Acute hemolytic anemia due to IgM penicillin antibody in a three years old child an sequel to oral penicillin. *J. Clin. Path.* 1975; 28:321-323.
4. Bowler, A. J. The role of the spleen and splenectomy in autoimmune hemolytic anemias. *Sem. Hematol.* 1976;13:335—348.
5. Buñuel, C., Val-Calvete, E., Torres, L., Lapeña, J. M. Anemia hemolítica autoinmune secundaria a quiste dermoide de ovario. *Sangre* 1976; 21:163—170.
6. Byrd, S. L., Thorup, J. R. Trastornos hemolíticos adquiridos, In: *Hematología Clínica*, 4a Ed., Editorial Interamericana, México, 1978; 218—236.
7. Chaplin, H. Clinical usefulness of specific antiglobulin reagents in autoimmune hemolytic anemias. *Prog. Hematol.* 1976;7:25—49.
8. Ciscar, F. Farreras, P. Anemias hemolíticas por autoanticuerpos. In: *Diagnóstico Hematológico Laboratorio y Clínica*, Tomo II, Ed. JIMS, España, 1972; 1556—1594.
9. Conley, C. L. Autoimmune hemolytic anemia with reticulocytopenia. *JAMA* 1980; 244:1688— 1690.
10. Dacie, J. V., Worlledge, S. M. Autoimmune hemolytic anemias. *Prog. Hematol.* 1969;6:82—98.
11. Dacie, J. V., Lewis, S. M. Laboratory methods used in the investigation of hemolytic anemias IV: Autoimmune hemolytic anemias. In: *Practical Hematology*. Fifth Edition. Churchill Livingtone, Great Britain, 1975; 255—303.
12. Dameshek, W., Schwartz, S. O. The presence of hemolysins in acute hemolytic anemia; preliminary note. *New Engl. J. Med.* 1938; 218:75—81.
13. Dameshek, W., Schwartz, S. O. Hemolysins as the cause of clinical and experimental hemolytic anemia. With particular reference to nature of spherocytosis and increased fragility. *Am. J. Med. Sci.* 1938; 169:769—784.
14. Dausset, J., Colombani, J. The serology and the prognosis of 128 cases of autoimmune anemia. *Blood* 1959; 14:1280—1301.
15. Elizondo, J. Sáenz, Páez, A. *Trabajo diagnóstico en el estudio de anemias*. CCSS Hospital San Juan de Dios, Mayo, 1979; 11—15.
16. Engelfriet, C. P., Kr, V. D., Borne, A. E., Beckers, D., Von Loghen, J. Autoimmune hemolytic anemia, serologic and immunochemical characteristics of antibodies; mechanisms of cell destruction. *Ser. Hematol.* 1970; 7:328—347.
17. Evans, R. S. Turner, E., Bingham, M., Woods, R. Chronic hemolytic anemia due to cold agglutinins. II The role of C' in red cell destruction. *J. Clin. Invest.* 1968;47:691—701.

18. Garraty, G., Pets, L. Drug induced immune hemolytic anemia. *Am. J. Med.* 1975;58:398—405.
19. Gilliland, B. C. Coombs negative immune anemia. *Sem. Hematol.* 1976; 13:267—275.
20. Gilliland, B. C., Baxter, E., Evans, R. Red-cell antibodies in acquired hemolytic anemia with negative antiglobulin serum test. *New Engl. J. Med.* 1971; 285:252—256.
21. Harris, J. W. Studies on the mechanisms of drug induced hemolytic anemia. *J. Lab. Clin. Med.* 1954;44:809—810.
22. Harboe, M. Interaction between 1131 trace-labelled cold agglutinin, complement and red cell. *Brit. J. Hematol.* 1964; 10:339—343.
23. Harboe, M., Muller-Eberhard, J. J., Fundenberg, H., *et al.* Polly, J. J., Mollison, P. Identification of components of complement participating in the antiglobulin reaction. *Immunology* 1963; 6:41 2—435.
24. Jandl, J. H. Hemolytic anemias. In: *Hematology* (Beck, W. S., Ed.), Lecture I and II, Second edition, The MIT Press, Massach., 1978; 225—268.
25. Kerr, R., Cardomone, J., Dalmosso, A. P., Kaplan, M. Two mechanisms of erythrocyte destruction in penicillin induced hemolytic anemia. *New Engl. J. Med.* 1972; 287:1322—1325.
26. Lalezari, P. Serologic profile in autoimmune hemolytic diseases and clinical interpretation. *Sem. Hematol.* 1976; 13:291 —310.
27. Leddy, J. P., Hill, R. W., Swisher, S. N., Vaughan, J. H. *Observations on the immunochemical nature of red cell autoimmunization Immunopathology.* III Int. Symps. Edited by Grabar, P. and Miesher, P., Schwabe, Basel, 1963.
28. LoBuglio, A. F., Jandl, J. H. The nature of alpha-methyl dopa red cell antibody. *New Engl. J. Med.* 1967;276:658—664.
29. Logue, G., Rosse, W. Immunologic mechanism in autoimmune hemolytic diseases. *Sem. Hematol.* 1976; 13:277-287.
30. Mackay, I. R., Burnet, M. F. Autoimmune hemolytic diseases. In: *Autoimmune diseases: Second Edition.* Charles Thomas Publisher, Illinois, 1964; 105-116.
31. Miesher, P. A. Autoimmune hemolytic anemias. In: *Textbook of Immunopathology* (Miescher, P. A., *et al.*) Vol. II, Grune & Stratton, N. Y., 1969; 458—468.
32. Murphy, S., LoBuglio, F. Drug therapy of autoimmune hemolytic anemia. *Sem. Hematol.* 1976; 13:323- 334.
33. Petz, L., Garraty, G. Anemia Hemolítica inducida por los medicamentos. *Clínicas Hematológicas* 1975; 3(1):186—203.
34. Pirofsky, B. *Autoimmunization and the autoimmune hemolytic anemia.* The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1969;73—499.
35. Pirofsky, B. Clinical aspects of autoimmune hemolytic anemia. *Sem. Hematol.* 1976; 13:251 — 265.
36. Pirofsky, B. Enfermedad hemolítica inmune; las anemias hemolíticas autoinmunes. *Clínicas Hematológicas* 1976; 3(1):171—185.
37. Pruzansky, W., Shumak, K. H. Biologic activity of cold-reacting autoantibodies. *New Engl. J. Med.* 1977; 297 :538—542.
38. Rapaport, S. Anemias hemolíticas producidas por anticuerpos. In: *Introducción a la Hematología*, Ed. Salvat, 1976; 108—123.
39. Roitt, I. Autoinmunidad. In: *Inmunología Esencial* 3a Edición, Ed. JIMS, 1978; 267—303.
40. Rosse, W. F. Quantitative immunology of immune hemolytic anemia. II. The relationship of cellbound to hemolysins and effect of treatment. *J. Clin. Invest.* 1971; 50:734—743.
41. Rosenfield, R., Jagathambal. Transfusion therapy for autoimmune hemolytic anemia. *Sem. Hematol.* 1976;13:311—321.
42. Rubin, H. Autoimmune hemolytic anemias. *Am. J. Clin. Path.* 1977; 68:638—642.

43. Sheehy, T. W. Autoimmune hemolytic anemia. *J. Med. Ass. State Alabama* 1978; 27:8—13.
44. Swisher, S. N. Erythrocyte disorders-anemias due to increased erythrocyte destruction mediated by antibodies. In: *Hematology* (Williams, W. J., et al.), Mc Graw Hill Book Co., 1972;486—510.
45. Worledge, S. M. Immune drug-induced hemolytic anemias. *Sem. Hematol.* 1969; 6:181—200.
46. Worledge, S. M. Immune drug-induced hemolytic anemia. *Sem. Hematol.* 1973; 10:327—344.
47. Worledge, S. M., Blajchaman, M. A. The autoimmune hemolytic anemias. *Brit. J. Hematol.* 1972; 23(suppl):61—80.
48. Weigle, W. O. The induction of autoimmunity in rabbits following injection of heterologous or homologous thyroglobulin. *J. Exp. Med.* 1965; 121 :289—307.
49. Wintrobe, M. M. Immuno-hemolytic anemias. In: *Clinical Hematology*. Seventh Edition. Lea & Febiger, Pha., 1974; 895 —933.