

Concentración de autoanticuerpos IgG en hematíes y respuesta al tratamiento en la anemia hemolítica autoinmune

Concentration of IgG autoantibodies on red blood cells and response to treatment in autoimmune hemolytic anemia

Dr. C. Antonio A. Bencomo Hernández, Dra. Maria Elena Alfonso Valdés, Dra. Inurkys Correa Palmero, Dra. C. Consuelo Macias Abraham, Dr. Onel M. Avila Cabrera, Dr. Carlos Hernández Padrón

Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: no existen suficientes evidencias que relacionen la respuesta al tratamiento con el patrón de autoanticuerpos o su concentración en los hematíes de los pacientes con anemia hemolítica autoinmune.

Objetivo: en este trabajo se investigó la asociación entre la respuesta al tratamiento y la remisión de la enfermedad con la concentración de autoanticuerpos IgG en los hematíes al inicio de la enfermedad.

Métodos: se realizó un estudio retrospectivo de 44 pacientes adultos con anemia hemolítica autoinmune caliente idiopática por presencia únicamente de autoanticuerpos IgG donde se relacionó la respuesta al tratamiento con el patrón de inmunoproteínas en los hematíes, la concentración de autoanticuerpos IgG en los hematíes, las cifras de hemoglobina y el conteo de reticulocitos.

Resultados: no se observó asociación entre el patrón de inmunoproteínas en los hematíes, las cifras de hemoglobina, el conteo de reticulocitos y la cuantificación de IgG en los hematíes, con la respuesta al tratamiento con prednisona, la administración de tratamiento de segunda línea ni con la remisión de la enfermedad, aunque el número de moléculas de IgG por hematíe fue 1,4 veces superior en los pacientes sin remisión en relación con los casos con remisión de la enfermedad.

Conclusiones: el patrón de inmunoproteínas en los hematíes, las cifras de

hemoglobina, el conteo de reticulocitos y la cuantificación de IgG en los hematíes al inicio de la enfermedad, no es un marcador pronóstico de respuesta al tratamiento.

Palabras clave: anemia hemolítica autoinmune, cuantificación de IgG en los hematíes, prueba de Coombs, tratamiento inmunosupresor.

ABSTRACT

Introduction: there is not enough evidence that relates the response to treatment with the pattern of autoantibodies or their concentration on red blood cells in patients with autoimmune hemolytic anemia.

Objective: to investigate the association of the response to treatment and the remission of the disease with the concentration of IgG autoantibodies on red blood cells at the beginning of the disease.

Methods: a retrospective study in 44 adult patients with idiopathic warm autoimmune hemolytic anemia with only IgG autoantibodies was carried out in order to relate the response to treatment to the immunoprotein pattern of red blood cells, the IgG autoantibodies concentration on red blood cells, the hemoglobin level and the reticulocyte count.

Results: association was not observed between the immunoprotein pattern, the hemoglobin level, the reticulocyte count and the quantitation of IgG on red blood cells, with the response to treatment with prednisone, administration of second-line treatment and the remission of the disease; although, the number of IgG molecules on red blood cells was 1,4 times higher in patients with no remission of the disease to those with remission.

Conclusions: the immunoprotein pattern, the hemoglobin level, the reticulocyte count and the quantitation of IgG on red blood cells at the beginning of the disease are not a prognostic marker of the response to treatment.

Key words: autoimmune hemolytic anemia, quantitation of IgG on red blood cells, Coombs test, immune-suppressor treatment.

INTRODUCCIÓN

La prueba de antiglobulina directa (Coombs) es el método más empleado para el diagnóstico inmunohematológico de las anemias hemolíticas autoinmunes (AHAI). La mayoría de los casos se clasifican como AHAII caliente (AHAIC) por la presencia de autoanticuerpos IgG y en menor frecuencia de los isotipos IgA e IgM.¹

El resultado de la prueba de antiglobulina directa (PAD) no permite apreciar diferencias en la concentración de los anticuerpos unidos a los hematíes ni predecir la gravedad de

la hemólisis.² Aunque el valor de la cuantificación de autoanticuerpos en relación con el grado de hemólisis es un aspecto controvertido, se reconoce que la destrucción inmune es proporcional a la concentración de inmunoglobulinas en los hematíes.³

Los estudios previos realizados en la institución demostraron que la severidad de la hemólisis en los pacientes con AHAIC está en relación con la coexistencia de múltiples inmunoglobulinas en los hematíes, en especial de la IgM, y en los casos con presencia únicamente de IgG, el número de moléculas de autoanticuerpos por hematíe fue un factor determinante.⁴

Otras investigaciones realizadas en nuestro medio encontraron que el 68 % de los pacientes con AHAIC responden satisfactoriamente al tratamiento con prednisona pero el 32 % restante requirieron de tratamiento con otros inmunosupresores o de la esplenectomía.⁵

Algunos autores han encontrado una menor respuesta al tratamiento y un aumento de la mortalidad en los pacientes con hemólisis grave,⁶ pero no existen suficientes evidencias que relacionen la respuesta al tratamiento con el patrón de autoanticuerpos o su concentración en los hematíes.⁷

De esta forma, en este trabajo se investigó la asociación entre la respuesta al tratamiento y la remisión de la enfermedad con la concentración de autoanticuerpos IgG en los hematíes al inicio de la enfermedad, en los pacientes con AHAIC idiopática.

MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de 44 pacientes adultos con AHAIC idiopática por presencia únicamente de autoanticuerpos IgG diagnosticados y atendidos en el Instituto de Hematología e Inmunología en el periodo comprendido entre agosto de 1997 y enero del 2006.

Al diagnóstico de la AHAIC, los resultados de la prueba de antiglobulina directa (PAD) con suero de Coombs poliespecífico y monoespecífico anti-IgG y anti-C3 y de la cuantificación de autoanticuerpos IgG, definido como el número de moléculas de IgG por hematíe estimado a través de un ensayo inmunoenzimático cuantitativo,⁸ se obtuvieron de los registros del laboratorio de Inmunoematología.

Los datos generales de los pacientes estudiados, las cifras de hemoglobina (Hb) y el conteo de reticulocitos al diagnóstico de la enfermedad, así como los relacionados con el tratamiento y la respuesta a este, se obtuvieron de la revisión de las historias clínicas.

Se consideró con respuesta al tratamiento con prednisona aquellos pacientes que recibieron uno o dos ciclos de tratamiento con prednisona en dosis de 60 mg diarios durante 3 meses, que fueron disminuidas paulatinamente y que mantienen cifras de hemoglobina y conteo de reticulocitos dentro de valores normales sin tratamiento o con dosis de mantenimiento entre 5-15 mg diarios.

En el grupo en que los pacientes recibieron tratamientos de segunda línea se incluyeron los casos refractarios a la prednisona y que fueron tratados con: gammaglobulina endovenosa (1g diario durante 3 días), danazol (600 mg diarios durante 3 meses), azatriopina (100 mg diarios entre 3 y 6 meses), vincristina (0,25 mg/m² diario durante 4 días), ciclofosfamida (100 mg diarios por 7 días); se les realizó esplenectomía o se utilizaron combinaciones de los tratamientos anteriores.

La remisión de la enfermedad se consideró en aquellos casos que, independientemente del tratamiento recibido, mantienen cifras de Hb y conteo de reticulocitos dentro de valores normales con PAD negativa sin tratamiento inmunosupresor por al menos 1 año. En el grupo de no remisión se clasificaron los casos que precisaron dosis de mantenimiento inmunosupresor después de haber recibido tratamiento con prednisona o esquemas de segunda línea .

Se elaboró una base de datos en el programa SPSS versión 13 donde se estratificaron los pacientes de acuerdo con los criterios explicados anteriormente y se realizaron los análisis estadísticos.

La relación entre las cifras de Hb con el logaritmo del número de moléculas de IgG por hematíe se estimó por el coeficiente de correlación de Pearson. Para investigar la relación entre el patrón de inmunoproteínas detectadas en la PAD con el tratamiento o la remisión de la enfermedad, se utilizó la prueba de Chi-cuadrado (χ^2). La comparación de las cifras de Hb, el conteo de reticulocitos y el logaritmo del número de moléculas de IgG por hematíe entre los grupos con respecto al tratamiento y la remisión de la enfermedad, se realizó por la prueba de *t* de Student. En todos los casos se consideró significativo un valor de $p < 0,05$ en dos colas.

RESULTADOS

El rango de edad de los pacientes estudiados fue de 24 a 73 años (mediana de 58 años), 32 (72,7 %) femeninos y 12 (27,3 %) masculinos. La PAD fue positiva por presencia solo de IgG en 28 casos (63,6 %) y se detectó IgG y C3 en 16 (36,4 %) enfermos.

En 34 pacientes (77,3 %) se observó respuesta a la prednisona, 5 de ellos (14,2 %) después de un segundo ciclo de tratamiento, y 10 (22,7 %) requirieron de tratamiento de segunda línea ([tabla 1](#)). En 35 casos (79,5 %) hubo remisión de la enfermedad, 33 solo con el tratamiento con esteroides y 9 pacientes (20,5 %) se clasificaron dentro del grupo de no remisión, 7 de los cuales recibieron esquemas de primera y segunda línea de tratamiento.

No se observó asociación entre el patrón de inmunoproteínas detectado en los hematíes en la PAD con la respuesta al tratamiento con prednisona, 10a administración de tratamiento de segunda línea ni con la remisión de la enfermedad ([tabla 2](#)).

Al diagnóstico de la AHAI los valores promedios de Hb fueron de 68,9 g/L (intervalo de 28 a 102), de reticulocitos 13,4 % (intervalo de 4 a 24) y de concentración de IgG 2 424 moléculas por hematíe (intervalo de 201 a 18 220). Se observó una correlación

negativa significativa entre las cifras de Hb ($r = - 0.35$; $p = 0,01$) con el número de moléculas de IgG por hematíe ([figura](#)).

A su vez, al inicio no se observaron diferencias entre las cifras de Hb ($t = 1,7$; $p = 0,09$), el conteo de reticulocitos ($t = 0,8$; $p = 0,40$) y la cuantificación de IgG en los hematíes ($t = 0,3$; $p = 0,70$), entre los pacientes con respuesta al tratamiento con prednisona y los que recibieron tratamiento de segunda línea. Estos parámetros tampoco mostraron diferencias significativas entre los casos en remisión y no remisión aunque el número de moléculas de IgG por hematíe fue 1,4 veces superior en los pacientes sin remisión en relación a los casos con remisión de la enfermedad ([tabla 3](#)).

DISCUSIÓN

La AHAIC es el tipo más común de anemia autoinmune. Los estimados oscilan entre el 48 y el 70 % del total de las AHAI. ⁹ En la mayoría de los estudios realizados se describe un predominio de pacientes del sexo femenino. ⁹ La serie estudiada mostró un predominio del sexo femenino coincidente con lo comunicado en la literatura. ¹⁰

En el estudio de la AHAIC es conveniente utilizar además de la PAD con suero de Coombs poliespecífico, los reactivos monoespecíficos anti-IgG y anti-C3 con vistas a caracterizar las inmunoproteínas presentes en los hematíes y orientar las pruebas inmunohematológicas a realizar para clasificar el tipo de AHAI. La frecuencia encontrada en los casos analizados es similar a las comunicadas en otras series, que oscilan entre el 30 % y el 66 % para la presencia de IgG sola y entre el 20 % y el 63 % en la presencia de IgG y C3. ¹¹ Las diferencias entre los estudios están influenciadas por el empleo de los reactivos monoespecíficos anti-IgA y anti-IgM que ofrecen un patrón más amplio de caracterización de los autoanticuerpos.

Este estudio excluyó los pacientes con presencia de autoanticuerpos de los isotipos IgA e IgM concomitando con la IgG con vistas a caracterizar estos últimos en relación con el tratamiento o la remisión de la enfermedad, ya que es conocido que existe un efecto sinérgico de estas inmunoglobulinas con la IgG en relación con la gravedad de la hemólisis, que podrían influenciar en los resultados. ⁴

Con relación al tratamiento, en la AHAI no existe consenso internacional que defina los parámetros de respuesta así como los de la remisión; por tanto, las definiciones de ellos varían entre los diferentes estudios. Los utilizados en esta investigación se adecuaron en relación con la respuesta de los pacientes al tratamiento y a lo sugerido por otros autores. ¹²

Similar a lo descrito en esta serie, la literatura sugiere la administración de los esteroides como primera línea de tratamiento de la enfermedad con los que se logra respuesta en el 70 al 80 % de los pacientes; entre el 45 % al 50 % de estos casos son necesarias dosis tolerables de mantenimiento de 5 a 15 mg diarios y se observa aproximadamente el 80 % de remisión completa. ¹³ El esteroide disminuye inicialmente el secuestro de los hematíes en el bazo y posteriormente la síntesis de autoanticuerpos. ¹

La necesidad de utilizar tratamientos de segunda línea por refractariedad al tratamiento con esteroides se observa en el 15 - 20 % de los casos,¹² que coincide con lo encontrado en los enfermos analizados. Las variantes incluyen la administración de drogas inmunosupresoras como la azatioprina, vincristina, ciclofosfamida, ciclosporina A y danazol para disminuir la producción de anticuerpos.¹⁴ Los beneficios de gammaglobulina endovenosa son contradictorios.¹³ En la actualidad, la mayoría de los autores plantean la realización de la esplenectomía y la terapia con anticuerpos monoclonales anti-CD20.¹⁵ En la serie analizada no se describen casos con tratamiento con anti-CD20 debido al periodo analizado donde el medicamento no estaba disponible en nuestro medio, y no fue posible clasificar a los pacientes de acuerdo con la respuesta a un esquema de tratamiento de segunda línea en particular, por el reducido número de casos refractarios a la prednisona.

En este estudio no se encontró relación entre la presencia de IgG o de IgG y C3 con la respuesta al tratamiento, similar a lo comunicado por otros autores.⁶ A pesar de que se considera que la presencia de IgG y C3 se asocia a un mayor grado de hemólisis, las investigaciones muestran resultados variables.² El papel del complemento en la hemólisis autoinmune es controvertido. Los autoanticuerpos pueden fijar complemento generalmente hasta el C3b, la acción de los inactivadores plasmáticos H e I provocan el clivaje del C3b a C3b inactivado (C3bi) y a partir de este a C3dg. Los macrófagos hepáticos, fundamentalmente, tienen receptores para el C3b y el C3bi pero no para el C3dg que es la fracción del C3 que se detecta en la PAD. De esta forma solo serán atrapadas aquellas células que conserven moléculas de C3b en su superficie y los hematíes con presencia de C3dg tendrán una supervivencia normal.¹³

La ausencia de relación entre las cifras de Hb y el conteo de reticulocitos al diagnóstico, con la respuesta al tratamiento y la remisión de la enfermedad, es un resultado esperado. Aunque estas determinaciones se utilizan como marcadores de la gravedad del proceso hemolítico muestran gran variabilidad y generalmente para clasificación de la hemólisis se asocian a la haptoglobulina plasmática, la bilirrubina no conjugada y la LDH.¹³ Estos últimos no fueron investigados en todos los casos por lo que no fue posible evaluar la intensidad de la hemólisis en relación con el tratamiento.

La Hb y los reticulocitos se incluyeron dentro de las variables a investigar debido a comunicaciones previas que demostraron una mejor respuesta al tratamiento con gammaglobulina endovenosa en los pacientes con cifras de Hb iguales o inferiores a 60 g/L.¹⁴ El uso de gammaglobulina endovenosa en solo 5 casos impidió evaluar la efectividad del fármaco en relación con la anemia.

Generalmente la destrucción de los hematíes es proporcional a la concentración de IgG unida a estas células;¹⁷ no obstante, este parámetro por sí solo no permite explicar las discrepancias observadas en los pacientes con AHAI con PAD negativa¹⁸ y donantes de sangre con PAD positiva sin presencia de hemólisis.¹⁹ De esta forma, en los casos estudiados se obtuvo una correlación negativa entre el número de moléculas de IgG por hematíe con las cifras de Hb al diagnóstico de la enfermedad, aunque no muestra una relación lineal por el bajo coeficiente de correlación que muestra.

En este estudio no se observó relación entre el número de moléculas de IgG por hematíe al diagnóstico de la AHAI, con la respuesta al tratamiento ni con la remisión de la enfermedad, aunque la concentración de IgG fue superior en los pacientes sin remisión. Hasta donde hemos consultado no existen estudios previos donde se comparen estas variables que puedan apoyar o refutar estos resultados. Otras

investigaciones indican que la cuantificación de IgG en los hematíes, en determinaciones longitudinales, puede ser una herramienta útil asociada a la caracterización de subclases, donde las variaciones en el número de moléculas de IgG durante el tratamiento es un marcador de mal pronóstico.²⁰ Por otra parte, la hemólisis autoinmune es un fenómeno complejo y multifactorial en el que otros factores pueden influir en la destrucción inmune de los eritrocitos que inciden en la respuesta al tratamiento. Dentro de estos se encuentran la actividad del sistema mononuclear fagocítico de los pacientes y el balance de citocinas que regulan la expresión de los receptores Fc presentes en los macrófagos y que modulan la destrucción inmune de los hematíes.⁷ No obstante, el pequeño tamaño de la muestra en los grupos con tratamiento de segunda línea y sin remisión de la enfermedad es un factor fundamental que incide en la validación de estos resultados. Teniendo en cuenta estas consideraciones es necesario proyectar estudios que involucren a un número mayor de pacientes para confirmar estos hallazgos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Packman CH. Hemolytic anemia due to warm autoantibodies. *Blood Rev.* 2008 Jan; 22(1):17-31.
2. Garraty G. The James Blundell Award Lecture 2007: Do we really understand immune red cell destruction? *Transfus Med.* 2008 Dec; 18(6):321-34.
3. Sokol RJ, Hudson G: Quantitation of red cell bound immunoprotein. *Transfusion.* 1998 Aug; 38(8):782-95.
4. Bencomo AA, Alfonso M E, Ávila Onel M, Espinosa E, Jaime JC, Hernández P. Relación entre hemólisis con la presencia y cuantificación de inmunoglobulinas en hematíes, en la anemia hemolítica autoinmune. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [revista en la Internet]. 2010 Dic [citado 2012 Ago 16]; 26(4): 315-327. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892010000400007&lng=es.
5. Alfonso ME, Bencomo AA, Espinosa E, Guerrero R, Guerra E, Guerrero AI. Caracterización de pacientes adultos con anemia hemolítica autoinmune atendidos en el Instituto de Hematología e Inmunología. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* [serie en internet]. 2009 Dic [citado 20 mayo 2010]; 25(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892009000300005&lng=es.
6. Wikman A, Axdorph U, Gryfelt G, Gustafsson L, Björkholm M, Lundahl J. Characterization of red cell autoantibodies in consecutive DAT-positive patients with relation to in vivo haemolysis. *Ann Hematol.* 2005 Mar; 84(3):150-8.
7. Barros MOM, Blajchman MA, Bordin JO. Warm autoimmune hemolytic anemia: recent progress in understanding the immunobiology and the treatment. *Transfus Med Rev.* 2010 Jul ; 24 (3): 195-210.

8. Bencomo AA, Díaz M, Alfonso Y, Valdés O, Alfonso ME. Quantitation of red cell-bound IgG, IgA, and IgM in patients with autoimmune hemolytic anemia and blood donors by enzyme-linked immunosorbent assay. *Immunoematology*. 2003; 19 (2): 47-53.
9. Lambert JF, Nydegger UE. Geoepidemiology of autoimmune hemolytic anemia. *Autoimmun Rev*. 2010 Mar; 9(5):A350-4.
10. Petz LD, Garraty G. Immune hemolytic anemias. 2nd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2004.
11. Brecher ME, ed. AABB Technical manual. 14th ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 2002.
12. Lechner K, Jäger U. How I treat autoimmune hemolytic anemias in adults. *Blood*. 2010 Jun; 116 (11):1831-1838.
13. Gehrs BC, Friedberg RC. Autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol*. 2002 Apr; 69(4):258-71.
14. Hoffman PC. Immune hemolytic anemia-selected topics. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009: 80-6.
15. Dierickx D, Delannoy A, Saja K, Verhoef G, Provan D. Anti-CD20 monoclonal antibodies and their use in adult autoimmune hematological disorders. *Am J Hematol*. 2011 Mar; 86(3):278-91.
16. Pruss A, Salama A, Ahrens N, Hansen A, Kiesewetter H, Koscielny J, et al. Immune hemolysis-serological and clinical aspects. *Clin Exp Med*. 2003 Sep; 3(2):55-64.
17. Domen RE. Warm red blood cell autoantibodies and the direct antiglobulin test revisited. *Am J Clin Pathol*. 2004 Nov; 122(5):673-4.
18. Garratty, G. Immune hemolytic anemia associated with negative routine serology. *Semin Hematol*. 2005 Jul; 42 (3): 15664.
19. Alaia V, Frey B M, Siderow A, Stammli P, Kradolfer M, Lutz HU. A pair of naturally occurring antibodies may dampen complement-dependent phagocytosis of red cells with a positive antiglobulin test in healthy blood donors. *Vox Sang*. 2009 Nov; 97(4):338-47.
20. Fabijanska-Mitek J, Poglo R, Adamowicz-Salach A, Łopińska H. Quantitation of red cell-bound IgG by an enzyme-linked antiglobulin test in the patients with warm-type autoimmune haemolytic anaemia. *Clin Lab Haematol*. 2006 Aug; 28(4):241-4.

Recibido: Julio 30, 2012

Aceptado: Septiembre 27, 2012

Dr. C. Antonio Bencomo Hernández.

Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, Ciudad de La Habana, CP 10800, CUBA. Tel (537) 643 8695, 8268 Fax (537) 644 2334

Email: rchematologia@infomed.sld.cu Website: www.sld.cu/sitios/ih