



Abordaje del laboratorio de anemia hemolítica autoinmune (AHAI)

José Luis Alcaraz López

La AHAI está caracterizada por un grupo de trastornos que llevan a la destrucción de los eritrocitos a través de anticuerpos dirigidos contra sus propios antígenos. La hemólisis puede ser de tipo intravascular por activación del sistema del complemento hasta C9; o extravascular, mediada por los macrófagos del sistema retículo endotelial, generalmente asociada a anticuerpos de la clase IgG.¹

Se ha clasificado en varios grupos según las causas que la originan, el tipo de inmunoglobulina causante del acortamiento de la vida media del eritrocito y la temperatura de acción:²

Por anticuerpos activos a 37° C se clasifican en:

1. Primaria o idiopática: En donde no es posible demostrar el factor desencadenante.
2. Secundaria, asociada a enfermedades como: lupus eritematoso sistémico, anemia perniciosa, artritis reumatoide, esclerodermia, leucemia linfocítica crónica, linfomas, enfermedad de Hodgkin, timomas, macroglobulinemia de Waldeström, mieloma múltiple, cáncer de colon, enfermedades gastrointestinales como enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa crónica inespecífica (CUCI), enfermedades virales, principalmente en niños.
3. Asociada a administración de drogas: Alfa metil doppa.³

Por anticuerpos fríos:

Primaria

Secundaria a: Neumonía por micoplasma, mononucleosis infecciosa y otras infecciones virales.

Hemoglobinuria paroxística al frío:

Idiopática

Secundaria a: Infecciones virales, sífilis, etc.

Datos clínicos y de laboratorio:

Es muy importante que en el resumen clínico enviado al laboratorio el médico reporte si observa: anemia, ictericia, esplenomegalia, adenomegalias, hepatomegalia, hemoglobinuria.

Datos de: hemoglobina, hematócrito, cuenta de leucocitos y plaquetas, reticulocitos, frotis de sangre periférica, bilirrubinas directa e indirecta, deshidrogenasa láctica, hemoglobina libre en plasma, haptoglobinas, metahemalbúmina.

En orina: bilirrubinas, urobilinógeno y hemosiderina.

Hallazgos en médula ósea:

Destrucción intramedular con hiperplasia normoblastica, incremento en las reservas de hierro, aumento de sideroblastos.

Clase de anticuerpos autoinmunes:^{4,5}

Anticuerpos fríos: Activos de 4 a 30° C.: Auto anti-I, Auto anti-i, Auto anti-P1, que son importantes cuando fijan la fracción C3d del complemento sobre el eritrocito sensibilizándolo. En estos casos, el eritrocito queda opsonizado por complemento sin llegar a C9, por lo que la hemólisis es extravascular.

Frecuentemente no se detecta el anticuerpo usando las técnicas clásicas, por lo que es necesario usar técnicas enzimáticas para estos casos.

Anticuerpos bifásicos: Fijan complemento en frío y producen hemólisis intravascular a 37° C: Anticuerpo de Donath Landsteiner (auto anti P bifásico), Auto anti-I, Auto anti-i.

Anticuerpos activos a 37°C:

La mayoría son auto anticuerpos contra todo el sistema Rh/Hr y por lo tanto se observa una panaglutina-

ción al realizar las técnicas en fase de coombs o a 37°C con enzimas, excepto contra células Rhnull.

Se observan pocas veces contra otros antígenos como I, i, S, etc.

Muestras sanguíneas necesarias para estudios:

4.5 mL de sangre coagulada para identificación de: Grupo inverso del sistema AB0, identificación de anticuerpos libres y pruebas para encontrar sangre compatible.

4.0 mL de sangre con EDTA para la identificación del Grupo directo del sistema AB0, Rho(D) y fenotipo eritrocitario. También se puede realizar investigación de anticuerpos irregulares con técnica de gel utilizando el plasma.

3.0 mL de sangre con heparina para estudios de hemoglobina libre, haptoglobinas y megahemalbúmina.

Estudios del laboratorio de inmunohematología en pacientes con AHAI:⁶

De inicio deben lavarse eritrocitos de la muestra con EDTA a la que se le ha retirado la capa de leucocitos y plaquetas. Estos eritrocitos servirán para realizar el grupo AB0 directo, Rho(D), prueba de coombs directo, autocontroles, fenotipos y pruebas de compatibilidad pretransfusional.

El autocontrol es positivo y/o se observan discrepancias en el grupo inverso:

Grupo AB0 directo y Rho(D):

1. Lavar los eritrocitos 4 veces con solución salina a 37°C, resuspender en salina y repetir el estudio. Poner al autocontrol 2 gotas de salina isotónica en lugar del suero.
2. Realizar el estudio con eritrocitos tratados con glicina a pH ácido.
3. Si persiste la incongruencia con los 2 métodos anteriores, los eritrocitos lavados incubarlos a 50°C por 10 minutos, lavar 3 veces los eritrocitos con salina a 37°C y realizar de nuevo el Grupo AB0 y Rho(D).

Grupo AB0 inverso:

1. Si el estudio se realiza en tubo, centrifugar por 30 segundos a 3,200 rpm incubar a 37°C por 10 minutos y sin centrifugar los tubos, nuevamente observar aglutinaciones.

2. Realizar auto-adsorción a 4°C, de preferencia con eritrocitos autólogos bromelizados y repetir el estudio con el suero absorto.

Realizar el estudio en gel usando los eritrocitos y suero de las técnicas arriba mencionadas y observar si hay concordancia o discrepancias con la técnica en tubo.

Prueba de coombs directo:

1. Realizar la prueba en técnica de tubo de preferencia con 8 diluciones consecutivas del suero de coombs para conocer y reportar al médico solicitante el título observado. Realizar el estudio con sueros específicos Anti-IgG y Anti-C3d,b.
2. Realizar el estudio en tarjetas de gel y observar si hay diferencias con lo encontrado con el estudio en tubo.

Fenotipo eritrocitario:

Toda muestra de coombs directo POSITIVA debe de tratarse con glicina a pH ácido para eliminar el anticuerpo unido a los eritrocitos.

Debemos tener mucho cuidado al interpretar los resultados encontrados ya que con este tratamiento se eliminan los antígenos del sistema Kell y se pueden afectar los antígenos: Lewis, P1, M y N, por lo que es recomendable poner un control K1 positivo en paralelo para ver la afectación por el tratamiento y en cuanto a Lewis, P1, M y N realizar los estudios en técnica de tubo usando eritrocitos sin tratar y lavados 4 veces con solución salina a 37°C.

Anticuerpos antieritrocitos:

Técnicas:

1. SALINA: fases: Rápida, 22° con 20 minutos de incubación, 37° con incubación de 60 minutos, lavar 3 veces para llevar a fase de coombs.
2. ALBÚMINA: Rápida, incubación a 37° por 60 minutos, lavar 4 veces para llevar a coombs
3. GEL
4. OTRAS: La bromelina se usa cuando al realizar el coombs directo encontramos los eritrocitos del paciente sensibilizados con complemento y en la investigación de anticuerpos libres con técnica de salina o albúmina no encontramos un anticuerpo que lo esté fijando. Generalmente, en estos casos encontramos un Auto anti-I que sólo lo detectan métodos enzimáticos.

Técnica salina:

1. Si se observan variaciones en el grado de aglutinación en S. coombs leer por separado las de un mismo grado para intentar ver un aloanticuerpo.

2. Si no hay variación en las aglutinaciones, se debe diluir el suero con salina 1:4 y repetir el estudio en salina y gel para buscar posibles aloanticuerpos ocultos en el autoanticuerpo. Esto se debe realizar también en el caso de aglutinaciones con variaciones.

ELUIDO (Anticuerpos despegados de los eritrocitos):

Técnicas:

1. Por calor
2. Éter
3. Cloroformo
4. Tricloro etileno + cloroformo
5. Variación de pH del medio

1. Realizar investigación de anticuerpos con panel de eritrocitos de fenotipo conocido.

2. Titulación del anticuerpo contra eritrocitos de igual fenotipo al del paciente y contra eritrocitos de fenotipos antitéticos al del paciente.

Sangre compatible:⁷

1. Las pruebas cruzadas siempre son incompatibles en técnica de combs.
2. Se deben transfundir concentrados eritrocitarios con fenotipo compatible con el paciente para: Sistemas ABO, Rh/Hr, Ss, Duffy, Kidd, Diego y K1 negativo.
3. Para encontrar la sangre a transfundir, primero tener varios concentrados eritrocitarios de igual fenotipo al paciente y enfrentarlos a 8 diluciones consecutivas del suero del paciente en técnica de gel y/o en salina-coombs, escogiendo para transfundir las que presenten menor aglutinación.

Frecuencia de anticuerpos en pacientes con diagnóstico de AHAI en población mexicana. Estudio de 154 casos

Población estudiada: 68.8% fueron mujeres, 31.2% hombres y no se realizó ningún estudio en niños.

Coombs directo positivo: 88.9%, C.D. Negativo con anticuerpo despegado de los eritrocitos positivo: 11.1%.

Clase de inmunoglobulina detectada: IgG: 32.5%, IgG+C3d,b: 48.7%, sólo C3b, d: 7.8%, especificidad no demostrable: 11%

Especificidad de autoanticuerpos libres en suero: Auto antisistema Rh: 49.4%, Auto Anti-I: 45.5%, Auto Anti-i 2%, de otros sistemas eritrocitarios: 3.1%

Especificidad de anticuerpos despegados de los eritrocitos: Auto Anti SRh: 89.8%, Auto Anti-I 5.1%, Auto Anti-i 2%, de otros sistemas: 3.1.

Alo anticuerpos detectados junto con los auto anticuerpos: 28.6%

Conclusiones

1. La AHAI puede tener varios orígenes.
2. Una buena historia clínica nos orienta a escoger el protocolo apropiado para identificar la clase de anticuerpos implicados.
3. La comunicación entre el servicio clínico y las diferentes áreas de laboratorio es esencial para un diagnóstico correcto con reportes acordes a la enfermedad del paciente.
4. Es de vital importancia saber clasificar y diferenciar los Auto y los Alo anticuerpos implicados para definir el tipo de sangre a transfundir.

Referencias

1. Linares GJ. Inmunohematología y transfusión. Cromotip C.A. Caracas. 1986.
2. Petz LD. Treatment of autoimmune hemolytic anemia. Curr Opin Hematol 2001; 8: 411.
3. Bergeron D, Adams SM. Autoimmune hemolytic anemias and drug induced hemolytic anemias. Quinley E. Ed. 2nd ed. Immunohematology. Philadelphia; Lippincott Williams and Wilkins. 1998.
4. Garratty G. Pathophysiology of autoimmune hemolytic anemia. En: The Compendium, AABB 2001.
5. Dacie, Sir John. The haemolytic anaemias. The auto-immune haemolytic anaemias. 3rd ed. Churchill Livingstone. U.K. 1992.
6. Petz LD, Garratty G. Blood transfusion in autoimmune haemolytic anemias. Immune haemolytic anemias, 2nd ed. Churchill Livingstone, New York 2004: 375.
7. Garratty G, Telen MJ, Petz LD. Red cell antigens as functional molecules and obstacles to transfusion. Hematology. Am Soc Hematol Educ Program 2002; 445-62.

Correspondencia:

QFB José Luis Alcaraz López

E-mail: jalloz@prodiy.net.mx