

Instituto de Hematología e Inmunología

PRESENCIA DE INMUNOCOMPLEJOS CIRCULANTES Y ALTERACIONES DEL SISTEMA COMPLEMENTO EN PACIENTES CON LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA Y COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA

Lic. Rinaldo Villaescusa Blanco, Lic. Ada A. Arce Hernández, Lic. Julio C. Merlín Linares, Lic. Ana M. Guerreiro Hernández, Lic. Luz M. Morera Barrios, Dr. Edgardo Espinosa Martínez y Dra. Delfina Almagro Vázquez

RESUMEN

Se efectuó la determinación de inmunocomplejos circulantes (ICC) así como la medición del sistema complemento por la vía clásica, vía alterna, actividad del factor B y la cuantificación del tercer (C3) y cuarto (C4) componentes de complemento en 30 pacientes con leucemia promielocítica (LPM) al diagnóstico, 22 de los cuales presentaron coagulación intravascular diseminada (CID). Se demostró la existencia de niveles elevados de ICC en los enfermos con CID y una disminución significativa de la actividad de la vía clásica, los componentes C3 y C4 en los enfermos con CID, al compararlos con el grupo de pacientes que no presentaba el trastorno de la hemostasia y los controles normales, lo que sugiere la posible participación de estos parámetros en el fenómeno de la CID en estos enfermos.

Descriptores DeCS: COAGULACION INTRAVASCULAR DISEMINADA/ inmunología; LEUCEMIA PROMIELOCITICA AGUDA/inmunología; COMPLEJO ANTIGENO-ANTICUERPO/análisis; COMPLEMENTO/análisis.

La hemorragia es la complicación fatal más frecuente en pacientes con leucemia promielocítica (LPM).¹ Se ha encontrado un número variable de trastornos de la hemostasia en esta enfermedad, donde ocupa un papel central la coagulación intravascular diseminada (CID).^{2,3} Su inicio puede deberse a diversos mecanismos, entre los que se plantean la liberación de sustancias procoagulantes de los promielocitos inmaduros, la activación del

Factor XII por complejos antígeno-anticuerpo, la reacción de liberación de mediadores plaquetarios o el daño endotelial, con la subsiguiente exposición de colágeno subendotelial y la membrana basal.^{4,6}

En los pacientes con LPM se ha observado una elevada frecuencia de infecciones bacterianas, lo que favorece la ocurrencia de CID severa.^{7,8}

El objetivo de nuestro trabajo fue estudiar los niveles de inmunocomplejos

circulantes (ICC), así como la activación del sistema complemento en un grupo de pacientes con LPM al diagnóstico con y sin CID.

MÉTODOS

Se estudiaron 30 pacientes con LPM no tratados previamente, con una edad promedio de 32 años y un rango entre 23 y 40 años. El diagnóstico se estableció según la clasificación del grupo FAB.⁹ En 22 casos se comprobó la presencia de CID por los métodos de laboratorio ya descritos,¹⁰ en los 8 restantes no se demostró la coagulopatía. En el momento del estudio ningún paciente presentaba infección clínica manifiesta y se excluyeron aquellos casos con insuficiencia renal o hepática.

Los valores de referencia de las pruebas que se efectuaron se obtuvieron a partir de 30 sujetos sanos con características similares en cuanto a edad y sexo a la de los enfermos estudiados. La sangre se obtuvo por punción venosa y se conservó el suero a -30 °C. Los sueros controles se obtuvieron y se conservaron en las mismas condiciones.

La determinación de ICC se realizó mediante la prueba de desviación del C1q (PDC1q) propuesta por *Sobel* y otros¹¹ y la precipitación con polietilenglicol 6000 (PEG 6000), de acuerdo con *Hasková*.¹²

La actividad hemolítica de la vía clásica (AHVC) se determinó por el método descrito por *Mayer*,¹³ la actividad de la vía alterna (AHVA) según *Platts-Mills* y otros¹⁴ y la actividad hemolítica del factor B (AHFB) de la vía alterna se midió por la técnica de *Aguado* y otros.¹⁵

Los niveles del tercer (C3) y cuarto (C4) componentes del complemento se cuantificaron por inmunodifusión radial simple,¹⁶ para lo cual se emplearon placas de cuantificación elaboradas en nuestro laboratorio.

Para la comparación de las medias y desviaciones estándar de pacientes y controles normales se empleó la t de Student para muestras independientes utilizando el paquete estadístico MICROSTA.

RESULTADOS

Se observó un aumento significativo de los niveles de ICC, tanto por la PDC1q, como por la prueba de precipitación con PEG 6000 ($p < 0,001$) en los pacientes con CID, al compararlos con los que no lo presentaban y los controles normales (tabla 1).

Se demostró una disminución significativa de la AHVC, C3 y C4 para una $p < 0,001$ en los pacientes con CID. El resto de los parámetros del complemento se mantuvo dentro de límites normales en todos los pacientes estudiados (tabla 2).

TABLA 1. Inmunocomplejos circulantes en pacientes con leucemia promielocítica (LPM) al diagnóstico con y sin coagulación intravascular diseminada (CID)

Métodos	Pacientes (LPM)		Controles normales (n = 30)
	CID (+) (n = 22)	CID (-) (n = 8)	
PDC1q (% inhibición)	30,2 ± 5,8*	10,1 ± 6,0	10,0 ± 10,0
Precipitación PEG 6000 3,75 % (DO . 10 ⁻²)	22,6 ± 4,1*	8,5 ± 3,1	9,0 ± 4,0

* Diferencia significativa comparada con los pacientes CID (-) y los controles normales, para una $p < 0,001$.

PDC1q: prueba de desviación del C1q; PEG: polietilenglicol.

TABLA 2. Niveles del complemento en pacientes con leucemia promielocítica (LPM) al diagnóstico con y sin coagulación intravascular diseminada (CID)

Métodos	Pacientes (LPM)		Controles normales (n = 30)
	CID (+) (n = 22)	CID (-) (n = 8)	
AHVC (CH50)	17,1 ± 2,5 *	25,8 ± 3,0	27,5 ± 6,5
AHVA (%)	97,1 ± 14,8	96,5 ± 13,9	98,0 ± 16,0
AHFB (%)	101,2 ± 13,4	99,2 ± 18,5	100,0 ± 24,0
C3 (g/L)	0,95 ± 0,40*	1,58 ± 0,46	1,52 ± 0,50
C4 (g/L)	0,21 ± 0,09*	0,33 ± 0,11	0,35 ± 0,15

* Diferencia significativa al comparar con los pacientes CID (-) y los controles normales, para una $p < 0,001$.

AHVC: actividad hemolítica vía clásica; AHVA: actividad hemolítica vía alterna; AHFB: actividad hemolítica Factor B.

DISCUSIÓN

Los trastornos de la hemostasia representan una de las complicaciones más graves en los pacientes con LPM y constituye la principal causa de muerte en la fase inicial de la enfermedad. En nuestra casuística, el 73,3 % de los casos presentaron CID en el momento del diagnóstico, similar a lo planteado por otros autores.¹⁷

El desarrollo de la CID presenta un denominador común: la activación sostenida, aguda o crónica del mecanismo de coagulación, que puede deberse a causas diferentes y que varían de acuerdo con la etiología de la CID; sin descartarse la participación de otros sistemas como el de calicreínas-quininas, el fibrinolítico y el del complemento.^{18,19}

Entre los posibles factores desencadenantes de la CID tenemos los complejos antígeno-anticuerpo, que pueden producir la activación del factor de Hageman que inicia el mecanismo intrínseco de la coagulación, provocar daño endotelial con la liberación de sustancias que favorecen la adhesión y agregación plaquetaria, así como la liberación del factor hístico, activador de la vía extrínseca de la coagulación.^{2,20,21} En nuestro trabajo se demostraron niveles elevados de ICC en el

grupo de pacientes con CID, no así en aquellos casos donde la coagulopatía no estaba presente, lo que sugiere la posible participación de éstos en la CID. La formación de complejos en estos pacientes pudiera estar relacionada con la posibilidad de infecciones subclínicas, aunque es de señalar que los procesos inflamatorios que pueden acompañar al cuadro, con liberación de citocinas como la interleucina-1, interleucina-6, factor de necrosis tumoral y producción de superóxidos, pueden ocasionar daño endotelial¹⁸ con liberación de antígenos celulares, y por lo tanto, la posibilidad de formación de complejos solubles.

El consumo de complemento expresado por los bajos niveles de la actividad de la vía clásica y los componentes C3 y C4 en los pacientes con CID, pudiera asociarse con los niveles elevados de ICC, aunque debe tenerse en cuenta la posible presencia de plasminas circulantes, producto de la activación de la fibrinólisis que ocurre en este síndrome, cuya acción sobre el sistema complemento es ampliamente conocida.²²

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo indican la necesidad de continuar el estudio de estos parámetros en pacientes con LPM durante varias etapas de la enfermedad, lo que nos permitiría profundizar en la repercusión de éstos en la iniciación y progresión de la CID.

SUMMARY

The determination of the circulating immunocomplexes (CIC) as well as the measurement of the complement system were carried out by the classical pathway, alternate pathway, factor B activity and the quantitation of the third (C3) and fourth (C4) components of the complement in 30 patients with promyelocytic leukaemia (PML) on diagnosis, 22 of whom presented disseminated intravascular coagulation (DIC). It was proved the existence of elevated levels of CIC in patients with DIC and a marked reduction of the activity of the classical pathway and of the C3 and C4 components in patients with DIC, on comparing them with the group of patients that did not have hemostasis disorder and with the normal controls, which suggest the possible participation of these parameters in the phenomenon of DIC in these patients.

Subject headings: DISSEMINATED INTRAVASCULAR COAGULATION/immunology; LEUKEMIA, PROMYELOCYTIC ACUTE/immunology; ANTIGEN-ANTIBODY COMPLEX/analysis; COMPLEMENT/analysis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Avvisat G, Tencate JW, Mandelli F. Acute promyelocytic leukemia. *Br J Haematol* 1992;81:315-20.
2. Bick RL. Disseminated intravascular coagulation and related syndromes. A clinical review. *Semin Thromb Hemost* 1988;14:299-338.
3. _____. Disseminated intravascular coagulation. *Hematol Oncol Clin North Am* 1992;6:1259-85.
4. Gordon SC. Cancer cell procoagulants and their role in malignant disease. *Semin Thromb Hemost* 1992;18:424-33.
5. Matsuda T. Disseminated intravascular coagulation. *Pathophysiology. Nippon Rinsho* 1993;51:15-20.
6. Ishibashi M, Ito N, Fujita N, Furde H, Yamaji T. Endothelin-1 as an aggravating factor of disseminated intravascular coagulation associated with malignant neoplasm. *Cancer* 1994;73:191-5.
7. Yoshikawa T, Tanaka KR, Guze LB. Infection and DIC. *Medicine* 1971;50:237-41.
8. Preston FE, Maha RG, Sworn MJ, Blackburn EK. Intravascular coagulation and *E. coli* septicemia. *J Clin Pathol* 1973;26:120-3.
9. Bennet JM. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1985;103:620-5.
10. Bredbacka S, Blomback M, Wiman B, Pelzer H. Laboratory methods for detecting disseminated intravascular coagulation (DIC): new aspects. *Acta Anesthesiol Scand* 1993;37:125-30.
11. Sobel AT, Bokisch VA, Muller-Eberhard HJ. C1q deviation test for the detection of immune complexes, aggregates of IgG and bacterial products in human serum. *J Exp Med* 1975;142:139-50.
12. Hasková V, Kaslik J, Riha I, Math I, Rovensky J. Simple method of circulating immune complex detection in human sera by polyethylene glycol precipitation. *Z Immunitätsforsch* 1978;154:399-404.
13. Mayer MM. Complement and complement fixation. En: Kabat EA, Mayer MM, eds. *Thomas Publisher*, 1967;133-240. *Experimental immunochemistry*.
14. Platts-Mills TAE, Ishizaka K. Activation of the alternate pathway of human complement by rabbit cells. *J Immunol* 1974;113:348-58.
15. Aguado MT, Celada A, Lambert PH. Medida de la función de la vía alternativa del sistema complemento. Actividad hemolítica y solubilización de inmunocomplejos. *Inmunología* 1983;2:62-70.
16. Mancini G, Verman J, Carbonara AD, Heremans JJ. A single radial diffusion method for the immunological quantitation of proteins. En: Peeters H, ed. *Int Prot Biol Fluids 11th Colloqu Bruges*. Oxford: Pergamon, 1964:370-3.
17. Zuazo I. Association of acute leukemia with disseminated intravascular coagulation in adults. Analysis of 14 cases. *Med Clin* 1989;93:441-4.
18. Altman R, Rouvier J, Reussi R. Coagulación intravascular diseminada. Cuadernos de trombosis. *Rev Iberoam Tromb Hemost* 1995;4:1-31.

19. Akakike M, Yokoi K, Wada M, Sebe T, Shigekiyo T, Kawai H, et al. Activation of coagulation and fibrinolysis in patients with abdominal true aortic aneurysm associated with disseminated intravascular coagulation. *Kokyu To Junkan* 1993;41:267-70.
20. Tavares de Lima W, Sirvis P, Jancar S. Immune-complex alveolitis in the rat: evidence for platelet activating factor and leukotrienes as mediators of the vascular lesions. *Eur J Pharmacol* 1992;213:63-70.
21. Shimamoto Y, Ohta A, Sano M, Suga K, Yamaguchi M. Improved or fatal acute disseminated intravascular coagulation in systemic lupus erythematosus. *Am J Hematol* 1993;42:191-5.
22. Marva E, Arocha Piñango CL. El sistema fibrinolítico. Mecanismo fisiológico, activadores, inhibidores y moduladores. *Rev Iberoam Tromb Hemost* 1993;3-4:195-206.

Recibido: 7 de diciembre de 1998. Aprobado: 24 de diciembre de 1998.

Lic. *Rinaldo Villaescusa Blanco*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800, Ciudad de La Habana, Cuba.

Teléf. (537)578268. Fax(537)338979. e-mail:ihidir@hemato.sld.cu