

Instituto de Hematología e Inmunología

SISTEMA DEL COMPLEMENTO E INMUNOCOMPLEJOS CIRCULANTES EN EL MIELOMA MÚLTIPLE

Dr. Carlos Hernández Padrón, Dr. Julio Fernández Águila, Lic. Rinaldo Villaescusa Blanco, Dr. Edgardo Espinosa Martínez, Dr. Rafael Losada Buchillón, Dr. José R. Mesa Cuervo y Dra. Alelí Plasencia Ternblón

RESUMEN

Se estudiaron 39 enfermos con mieloma múltiple (12 IgA y 27 IgG) en diferentes estadios de la enfermedad: 9 en estadios I + II y 30 en el estadio III, y en diferentes fases clínicas: 17 en fase activa precoz, 7 en fase estable, 8 en recaída y 7 en fase refractaria. Se evaluó la actividad hemolítica de la vía clásica, de la vía alterna y del factor B del complemento. Se cuantificaron los componentes C3 y C4 y se determinó la presencia de inmunocomplejos circulantes. Se comprobó una disminución significativa de la actividad hemolítica de la vía alterna ($p=0,0002$), de la actividad hemolítica del factor B ($p=0,00001$) y de los niveles séricos de C3 ($p=0,00001$). Estas alteraciones se mantuvieron independientemente del tipo de paraproteína, estadio y fase clínica de los pacientes estudiados.

Descriptores DeCS: MIELOMA MULTIPLE/inmunología; VIA CLASICA DEL COMPLEMENTO; VIA ALTERNATIVA DEL COMPLEMENTO; PROPERDINA FACTOR B; COMPLEMENTO 3; COMPLEMENTO 4; COMPLEJO ANTIGENO-ANTICUERPO.

El mieloma múltiple (MM) tiene un amplio espectro de manifestaciones clínicas que van desde una etapa indolente hasta episodios fulminantes asociados con compromiso de múltiples órganos y muerte a corto plazo. El curso clínico de la enfermedad se caracteriza por la anemia, dolores y fracturas óseas, hipercalcemia, deterioro de la función renal e infecciones recurrentes.¹

La mayor susceptibilidad a las infecciones es el resultado de un deterioro en las defensas del hospedero. La causa pa-

rece ser multifactorial e involucra trastornos tanto celulares como humorales.²

En la actividad celular se han encontrado trastornos en la función de los granulocitos,³⁻⁵ de los monocitos, este último no aceptado por todos los investigadores⁵ y de los linfocitos T, tanto por una disminución en su número como por alteraciones en la distribución de las subpoblaciones CD4/CD8.⁶⁻⁹ También se ha demostrado disminución de la actividad de las células asesinas naturales (NK) en enfermos en estadios avanzados y aumento

de éstas en los que muestran una baja masa tumoral.¹⁰

A pesar de la gran variedad de alteraciones descritas, la mayoría de las infecciones ocurren en presencia de un número adecuado de neutrófilos circulantes con función aparentemente normal.¹¹ Este hecho, unido a la frecuencia relativamente baja de infecciones virales y micóticas, ha motivado que las investigaciones se dirijan a los trastornos humorales más que a los celulares.

En el MM se produce un aumento monoclonal de una inmunoglobulina anormal, el resto de las inmunoglobulinas normales, incluyendo los anticuerpos naturales, suelen estar disminuidas, así como la respuesta a antígenos específicos.^{12,13} En el sistema del complemento se señala disminución en las concentraciones de los componentes tercero y cuarto (C3 y C4), así como en la actividad hemolítica de la vía alterna (AHVA) y del factor B.¹⁴⁻¹⁶ Otras alteraciones reportadas son el aumento del fragmento Bb que sugiere la activación de la vía alterna (VA),¹⁷ unión deficiente del C3b, componente del sistema con mayor actividad como opsonina al *Streptococcus pneumoniae*, posiblemente motivado por defectos en la actividad del C3¹¹ y disminución del componente C1.^{3,17}

La mayoría de las investigaciones en esta enfermedad se han limitado al análisis aislado de los parámetros anteriormente mencionados en un número pequeño de casos, y se han obtenido resultados disímiles. Por ello nos propusimos realizar el presente trabajo en un grupo de pacientes con MM en diferentes estadios y fases clínicas de la enfermedad.

MÉTODOS

Se estudiaron 39 pacientes (16 mujeres y 23 hombres) atendidos en el Instituto de

Hematología e Inmunología que cumplían los criterios diagnósticos establecidos para el MM.¹⁸ Se clasificaron en diferentes estadios de la enfermedad teniendo en cuenta los siguientes criterios: en fase activa precoz se consideraron los enfermos al momento del diagnóstico. La fase estable se definió como un período con cambios menores del 20 % en la concentración sérica del componente monoclonal o en la excreción urinaria de cadenas ligeras, sin signos de progresión de la enfermedad desde el punto de vista clínico, radiológico o de laboratorio, mantenidos por 6 meses o más.¹⁹ Como recaída se interpretó la progresión del proceso neoplásico en aquellos enfermos que previamente habían respondido a la terapia de inducción. En fase refractaria se incluyeron los pacientes con resistencia primaria a la quimioterapia y/o progresión de la enfermedad durante la etapa de inducción de la remisión.²⁰

El estadio clínico del mieloma se estableció a partir del sistema propuesto por *Durie y Salmon*.²¹ Los pacientes en estadios I y II (3 y 6, respectivamente) se unificaron en un solo grupo con el propósito de hacer más homogénea la muestra.

Los pacientes también se clasificaron de acuerdo con la paraproteína expresada.

Ningún enfermo tenía complicaciones agudas, ni infecciones clínicamente demostrables en el momento de la investigación.

La sangre se obtuvo por punción venosa y se conservó el suero a -70°. Los sueros controles se obtuvieron y conservaron en las mismas condiciones. Se midió la actividad hemolítica de la vía clásica (AHVC) según el método descrito por Mayer,²² la AHVA acorde con lo propuesto por Platts-Mells²³ y la actividad hemolítica del factor B (AHFB) por el método de Aguado.²⁴ Los componentes C3 y C4 se cuantificaron por inmunodifusión radial simple con el empleo

de antisueros específicos²⁵ y los inmunocomplejos circulantes (ICC) mediante la precipitación con el polietilenglicol 6 000 al 3,76 % de concentración final.²⁶

Los valores normales de las pruebas se obtuvieron a partir de 30 individuos sanos con características similares en edad y sexo a la muestra estudiada.

Los datos se procesaron en un ordenador IBM compatible, utilizando el paquete estadístico Epi-Info versión 6,0. Se compararon los valores promedios de las diferentes variables según estadio, tipo de mieloma y fase clínica con un análisis de varianza 1 vía. El nivel de significación elegido fue del 5 %. Las variables se compararon con los valores de referencia del grupo control utilizando a prueba de la t de Student.

RESULTADOS

Del total de pacientes estudiados, 16 eran mujeres y 23 hombres. La edad promedio fue de 63 años (rango de 23 a 82 años). Diecisiete pacientes se encontraban en fase activa precoz, 7 en fase estable o de meseta, 8 en recaída y 7 en fase refractaria.

De acuerdo con la paraproteína expresada, 27 eran IgG y 12 IgA. Tres pacientes tenían mieloma no secretor, 2 de ellos IgG y el tercero IgA.

Al comparar los 39 pacientes con los controles normales, no hubo diferencias significativas en las determinaciones de la AHVC, en los valores de C4 y de los ICC; mientras que en los resultados de la AHVA, la AHFB y los niveles de C3, existió una diferencia muy significativa ($p < 0,05$) como muestra la tabla 1.

Los mismos resultados se obtuvieron cuando se analizaron las variables estudiadas al separar los enfermos según la paraproteína expresada, el estadio de la enfermedad y fase clínica en que se encontraban (tablas 2-4).

DISCUSIÓN

Las complicaciones infecciosas son muy frecuentes en pacientes con MM. Investigaciones previas han tratado de vincular la alta incidencia de procesos sépticos con defectos en la opsonización; sin embargo, son pocas las series que estudian el sistema del complemento y la mayoría de ellas tienen un reducido número de casos.^{2-4,10,11,27}

En el presente estudio no encontramos alteraciones de la AHVC, y sólo un paciente tuvo disminución del C4. Estos resultados difieren de lo planteado por otros autores, particularmente en lo referente a los niveles séricos del C4 que se comunica que

TABLA 1. Actividad del sistema del complemento e inmunocomplejos circulantes en pacientes con mieloma múltiple

Estudio	Controles normales			Pacientes			
	\bar{X}	DE	N	\bar{X}	DE	N	P
Actividad hemolítica vía clásica (CH50)	27,50	± 6,5	30	27,50	± 3,85	39	NS
Actividad hemolítica vía alterna (%)	98,00	± 16,0	30	81,30	± 9,67	37	0,0002
Actividad hemolítica factor B (%)	99,00	± 11,0	30	83,18	± 7,94	37	0,00001
C3 (g/L)	2,02	± 0,34	30	1,43	± 0,23	39	0,00001
C4 (g/L)	0,35	± 0,15	30	0,39	± 0,07	39	NS
Polietilenglicol 6000 (DO.10 ⁻²)	6,50	± 6,50	30	5,40	± 41,70	39	NS

TABLA 2. Actividad del sistema del complemento e inmunocomplejos circulantes según tipo de paraproteína

Estudio	Controles normales			Pacientes					
	\bar{X}	DE	N	\bar{X}	Mieloma IgA DE	N	\bar{X}	Mieloma IgG DE	N
Actividad hemolítica vía clásica (CH50)	27,50	± 6,50	30	27,01	±3,40	12	27,27	± 4,01	27
Actividad hemolítica vía alterna (%)	98,00	±16,0	30	78,43	± 3,49	11*	82,76	±11,62	26*
Actividad hemolítica factor B (%)	99,00	±11,0	30	84,09	±5,14	11*	82,84	±9,18	26*
C3 (g/L)	2,02	±0,34	30	1,39	±0,27	12*	1,44	± 0,22	27*
C4 (g/L)	0,35	±0,15	30	0,40	± 0,06	12	0,38	±0,08	27
Polietilenglicol 6000 (DO. 10 ⁻²)	6,50	±6,50	30	6,6	± 4,60	12	5,50	±4,8	27

* p < 0,001 con respecto a los controles normales.

TABLA 3. Actividad del sistema del complemento e inmunocomplejos circulantes según el estadio clínico

Estudio	Controles normales			Pacientes					
	\bar{X}	DE	N	\bar{X}	Estadios I + II DE	N	\bar{X}	Estadio III DE	N
Actividad hemolítica vía clásica (CH50)	27,50	± 6,50	30	26,33	± 2,46	9	27,86	±4,15	30
Actividad hemolítica vía alterna (%)	98,00	± 16,0	30	79,56	± 4,98	8*	81,82	±10,60	29*
Actividad hemolítica factor B (%)	99,00	± 11,0	30	82,90	± 4,87	8*	83,26	± 8,67	29*
C3 (g/L)	2,02	± 0,34	30	1,38	± 0,17	9*	1,45	± 0,25	30
C4 (g/L)	0,35	± 0,15	30	0,39	±0,08	9	0,39	± 0,07	30
Polietilenglicol 6000 (DO.10 ⁻²)	6,50	± 6,50	30	5,1	± 4,90	9	5,50	± 4,8	30

* p < 0,001 con respecto a los controles normales.

TABLA 4. Actividad del sistema del complemento e inmunocomplejos circulantes según fase de la enfermedad

Estudio	Controles normales			Pacientes											
	\bar{X}	DE	N	\bar{X}	Activa precoz DE	N	\bar{X}	Estable DE	N	\bar{X}	Recaída DE	N	\bar{X}	Refractaria DE	N
Actividad hemolítica vía clásica (CH50)	27,50	± 6,50	30	27,16	± 4,28	17	27,32	±1,89	7	29,72	±3,05	8	25,98	±4,60	7
Actividad hemolítica vía alterna (%)	98,00	±16,0	30	82,91	± 14,5	16*	81,73	±2,81	6*	79,26	±2,67	8*	79,74	±2,43	7*
Actividad hemolítica factor B (%)	99,00	±11,0	30	82,63	±10,88	16*	84,31	±5,28	6*	83,50	±5,59	8*	83,12	±4,52	7*
C3 (g/L)	2,02	± 0,34	30	1,47	± 0,18	17*	1,49	±0,23	7*	1,43	±0,32	8*	1,28	±0,19	7*
C4 (g/L)	0,35	± 0,15	30	0,39	± 0,07	17	0,42	±0,08	7	0,36	±0,06	8*	0,40	±0,09	7
Polietilenglicol 6000 (DO . 10 ⁻²)	6,50	± 6,50	30	4,7	± 4,0	17	6,9	±5,0	7	6,0	±5,1	8	6,3	±4,7	7

* p < 0,001 con respecto a los controles normales.

están disminuidos del 20 a 56 % de los casos.^{3,4,11,14,17}

La ausencia de ICC es un resultado que se corresponde con la ausencia de alteraciones en la vía clásica.

Se demostró disminución de la AHVA en el 69,2 % de los pacientes, atribuible a la disminución de la AHFB y de los niveles séricos del C3. *Kraut y Sagone*¹⁵ investigaron la VA del complemento en 18 pa-

cientes con MM mediante un ensayo de quimioluminiscencia y encontraron una actividad anormal en más de la mitad de éstos, pero solamente en un tercio de ellos apareció disminución de alguno de sus componentes. Zurlo y otros¹⁷ probaron activación de la VA, pero no identificaron el agente activador *in vitro* y sugirieron que *in vivo* pudieran actuar varios mecanismos: en primer lugar plantean la posibilidad de activación por las células tumorales basándose en hallazgos previos de otros autores²⁸ y en la relación demostrada por ellos entre la masa tumoral y la disminución de la actividad de la VA, y en segundo lugar, que los agregados de paraproteína actúen como agentes activadores.

Las alteraciones demostradas en esta investigación se presentaron de forma análoga en pacientes con diferentes tipos de mieloma según la proteína expresada, en aquéllos que tenían una masa tumoral más baja y en los que la masa tumoral era mayor, así como en todas las fases clínicas estudiadas. Estos resultados coinciden con los de otros autores, que no encontraron relación entre las disfunciones del sistema de complemento y los parámetros referidos.^{3,4} Spittler y otros¹⁴ comunicaron una disminución del C2, C3 y C4 en pacientes con mieloma IgG.

En las series estudiadas por Kraut y Sagone¹⁵ y Zurlo y otros¹⁷ se demostró una relación inversa entre la concentración sé-

rica de la proteína monoclonal y la de varios componentes del sistema.

Cheson y otros¹¹ comunicaron una asociación entre los antecedentes de infecciones, la fase clínica de la enfermedad y las alteraciones del complemento.

La AHFB está disminuida en el 79,5 % de nuestros enfermos, otros autores tuvieron un hallazgo similar, pero en menos del 30 % de sus pacientes.^{11,15,17} Esta alteración pudiera ser motivada por trastornos en la síntesis del factor B (cuantitativos y cualitativos) o por aumento de su catabolismo.

En el 84,5 % de los pacientes estuvo disminuida la cuantificación del componente C3, anomalía que ha sido comunicada por otros autores, pero en un porcentaje menor al nuestro.^{4,16,18,29} La disminución del C3 pudiera estar causada por un error en su síntesis o por aumento de su catabolismo.

La iniciación de la VA depende de la generación constante de moléculas de C3b capaces de fijarse de una manera específica a diferentes sustratos, discriminando entre las células propias y las de agentes infecciosos de acuerdo con su contenido de ácido siálico. La existencia de infecciones subclínicas pudiera ser un mecanismo que cause disminución de C3 por consumo, lo que unido a la afectación de la AHFB, conlleva a las alteraciones de la VA ya señaladas y además a una opsonización defectuosa, lo que pudiera influir en la alta incidencia de infecciones en pacientes con MM.

SUMMARY

39 patients with multiple myeloma (12 IgA and 27 IgG) in different stages of the diseases were studied. 9 were in stages I + II and 30 in stage III. As regards the clinical phases, 17 were in active early phase, 7 in steady phase, 8 in relapse and 7 in refractory phase. The hemolytic activity of the classical pathway, of the alternative pathway and of the complement factor B was evaluated. Components C3 and C4 were quantitated and the presence of circulating immune complexes was determined. A significant reduction of the hemolytic activity of the alternative pathway ($p=0.0002$), of the hemolytic activity of factor B ($p=0.00001$),

and of the serum levels of C3 ($p=0.00001$) was proved. These alterations occurred regardless of the type of paraprotein and of the stage and clinical phase of the studied patients.

Subject headings: MULTIPLE MYELOMA/immunology; COMPLEMENT PATHWAY, CLASSICAL; COMPLEMENT PATHWAY, ALTERNATIVE; PROPERDIN FACTOR B; COMPLEMENT 3; COMPLEMENT 4; ANTIGEN-ANTIBODY COMPLEX.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Malpas JS. Clinical presentation and diagnosis. En: Malpas JS, Bersagel DE, Kyle RA, eds. Myeloma: biology and management. Oxford: Oxford University, 1995:169-90.
2. Paglieroni T, Caggiano V, MacKenzie M. Abnormalities in immune regulation precede the development of multiple myeloma. *Am J Hematol* 1992;40:591-9.
3. MacGregor RR, Negendak WG, Schreiber AD. Impaired granulocyte adherence in multiple myeloma: relationship to complement system, granulocyte delivery and infection. *Blood* 1978;51:591-9.
4. Cheson DB, Plass RR, Rothstein G. Defective opsonization in multiple myeloma. *Blood* 1980;55:602-5.
5. Jacobson DR, Zolla-Pazner S. Immunosuppression and infection in multiple myeloma. *Semin Oncol* 1986;13:382-90.
6. Epstein J, Hoover R, Kornblut J, Barlogie B. Biological aspects of multiple myeloma. *Baillieres Clin Haematol* 1995;7:21-34.
7. Ruiz-Argüelles GJ, San Miguel JF. Cell surface markers in multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 1994;69:684-90.
8. Mellstedt H, Holm G, Petterson D, Björkholm M, Johansson B, Lindemalm C, et al. T cells in monoclonal gammopathies. *Scand J Haematol* 1982;29:57-64.
9. Barlogie B, Gale RP. Multiple myeloma and chronic lymphocyte leukemia: parallels and contrast. *Am J Med* 1992;93:443-50.
10. Osterborg A, Nilsson B, Björkholm M, Holm G, Mellstedt H. Natural killer cell activity in monoclonal gammopathies: relation to disease activity. *Eur J Haematol* 1990;45:153-7.
11. Cheson BD, Walker HS, Heath ME, Gobel RJ, Janatova J. Defective binding of the third component of complement (C3) to *Streptococcus pneumoniae* in multiple myeloma. *Blood* 1984;63:949-57.
12. Alexanian R, Dimopoulos MA. Management of multiple myeloma. *Semin Hematol* 1995;32:20-30.
13. Kolb JP, Arriens Zolla-Pazner S. Suppression of the humoral immune response by plasmacytomas: mediation by adherent mononuclear cells. *J Immunol* 1977;118:702-9.
14. Spittler LE, Spath P, Petz L, Cooper N, Fundenberg HH. Phagocytes and C4 in paraproteinaemia. *Br J Haematol* 1975;29:279-92.
15. Kraut EH, Sagone AL. Alternative pathway of complement in multiple myeloma. *Am J Hematol* 1981;11:335-45.
16. Hopen G, Glette J, Halstensen A, Kalager T, Schreiner A, Solberg. Granulocyte function in malignant monoclonal gammopathy. *Scand J Haematol* 1983;31:133-43.
17. Zurlo JJ, Schechter GP, Fries LF. Complement abnormalities in multiple myeloma. *AM J Med* 1989;87:411-20.
18. Durie BG. Staging and kinetics of multiple myeloma. *Semin Oncol* 1986;13:300-9.
19. Oken MM. Standard treatment of multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 1994;69:781-6.
20. Giles FJ. Refractory multiple myeloma: recent advances in therapy. *Hematol Pathol* 1995;9(3-4):121-40.
21. Durie BG, Salmon SE. Clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment and survival. *Cancer* 1975;36:842-5.
22. Mayer MM. Complement and complement fixation. En: Kabat EA, Mayer MM, ed. *Experimental immunochemistry*. Illinois: Thomas Publisher, 1967:133-240.
23. Platts-Mills TAE, Ishizata K. Activation of the alternative pathway of human complement by rabbits cell. *J Immunol* 1974;113:348-58.

24. Aguado MT, Celada A, Lambert PH. Medida de la función de la vía alternativa del sistema del complemento. Actividad hemolítica y solubilización de inmunocomplejos. *Inmunología* 1983;2: 63-70.
25. Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF. A single radial diffusion method for the immunological quantitation of proteins. Preters H. ed. *Int Prot Biol Fluid 11th Colloque*. Oxford: Pergamon 1964: 370-3.
26. Hasková V, Kaslik K, Riha I, Malt I, Rovensky J. Simple method of circulating immune-complex detection in human sera by polyethylene glycol precipitation. *Z Immun Forsch* 1978;154:399-406.
27. Hargreaves R, Griffiths, Faux T. Infection and immunological responses in myeloma. *Blood* 1991;76 (Suppl 1):352.
28. Ramos OF, Sarmay G, Klein E, Yefenof E, Gergely J. Complement-dependent cellular cytotoxicity: lymphoblastoid lines that activate complement component 3 (C3) and express receptors have increased sensitivity to lymphocyte-mediated lysis in the presence of fresh serum. *Proc Natl Acad Sci* 1985;82:5470-4.
29. Cheson BO. Opsonic activity of myeloma immunoglobulins (MM-Ig). *Am J Hematol* 1981;11:347-53.

Recibido: 10 de diciembre de 1998. Aprobado: 4 de febrero de 1999.

Dr. *Carlos Hernández Padrón*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléfono (537)578268. Fax (537)338979. e-mail: ihidir@hemato.sld.cu