

Instituto de Hematología e Inmunología

AUTOANTICUERPOS EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS TRATADOS CON INTERFERÓN ALFA

Lic. Antonio A. Bencomo Hernández,¹ Dr. María E. Alfonso Valdés,¹ Dr. Arturo Munster Infante,² Dr. Paulino Basanta Otero,¹ Dr. Edgardo Espinosa Martínez¹ y Dr. Porfirio Hernández Ramírez¹

RESUMEN

Se estudió la presencia de autoanticuerpos en 45 pacientes con enfermedades hematológicas: 32 con leucemia mieloide crónica (LMC) y 13 con otras enfermedades linfoproliferativas (ELP). Todos los pacientes con ELP y 20 con LMC recibieron tratamiento con interferón alfa (IFN) natural o recombinante alfa 2b en el momento del estudio. La duración media del tratamiento fue de 27 meses (1-96) y la dosis media administrada fue de 3 millones, 3 veces a la semana. Se detectaron autoanticuerpos eritrocitarios en 16 pacientes (80 %) con LMC tratados con IFN. No se detectaron autoanticuerpos eritrocitarios en 4 pacientes que recibieron tratamiento con IFN ni en el grupo de pacientes no tratados. En 5 pacientes (26 %) que recibían tratamiento con IFN y en 2 pacientes (12 %) sin tratamiento se detectaron otros autoanticuerpos. En los pacientes con autoanticuerpos en 3 pacientes (23 %) y anticuerpos antiparietales no hubo manifestaciones de anemia hemolítica autoinmune (AHAI) o de otras enfermedades autoinmunes. En los pacientes con ELP se detectaron autoanticuerpos en 3 pacientes (23 %) y autoanticuerpos antiparietales y antinucleares en 2 (14,3 %). En una paciente con enfermedad de Hodgkin se diagnosticó una AHAI a las 10 semanas de tratamiento con IFN.

Descriptores DeCS: ANTICUERPOS; INTERFERON ALFA/uso terapéutico; ENFERMEDADES HEMATOLOGICAS/terapia.

El interferón desde su descubrimiento se ha usado en el tratamiento de enfermedades malignas, aprovechando sus principales propiedades que son: inhibición de la replicación viral, inducción de la diferenciación, inhibición de la proliferación

celular, regulador de la hematopoyesis y como modulador del sistema inmune.¹ Los mejores resultados en el tratamiento de las hemopatías malignas se han obtenido en la leucemia de células peludas y en la leucemia mieloide crónica (LMC).²

¹ Instituto de Hematología e Inmunología.

² ICBP "Victoria de Girón".

Numerosos informes han documentado la modificación de algunos parámetros de la respuesta inmune por esta droga, como son: un incremento en la actividad de las células asesinas naturales, alteraciones en la actividad supresoras de los linfocitos y un incremento de la expresión de las moléculas de clase I y clase II del sistema principal de histocompatibilidad. Estos parámetros se han relacionado con la inducción de autoinmunidad por el interferón alfa (IFN α).²

La presencia de autoanticuerpos eritrocitarios en el curso del tratamiento con este fármaco no ha sido ampliamente estudiada, únicamente éstos se han investigado después de la aparición de anemia hemolítica autoinmune (AHAI) relacionada con su administración.³⁻⁵

En este trabajo comunicamos la presencia de autoanticuerpos eritrocitarios y de otros autoanticuerpos asociados al tratamiento con IFN α en pacientes con LMC y otras enfermedades linfoproliferativas (ELP).

MÉTODOS

Se estudiaron 45 pacientes con enfermedades hematológicas: 32 con LMC y 13 con otras enfermedades linfoproliferativas. Todos los pacientes con ELP y 20 pacientes con LMC recibían tratamiento con IFN α (natural o recombinante α_2b , Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, IMEFA, Cuba) en el momento del estudio. La duración media de tratamiento fue de 27 meses (rango 1-96) y la dosis media administrada fue de 3 millones 3 veces a la semana.

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción venosa y se colectaron en tubos que contenían EDTA al 5 % y en tubos secos para la obtención de suero.

ESTUDIOS DE AUTOANTICUERPOS ERITROCITARIOS

En el estudio se realizaron las siguientes determinaciones: fenotipo Rh, la prueba de antiglobulina directa (PAD) con suero de Coombs poliespecífico y monoespecífico anti-IgG y anti-C₃, la prueba de antiglobulina indirecta (PAI), la detección de anticuerpos con eritrocitos tratados con papaína, elución con éter, título de crioaglutininas y prueba de anticuerpos bifásicos de Donath-Landsteiner. Todos los procedimientos fueron realizados según las técnicas normalizadas.⁶

A todos los pacientes en los que no se demostró presencia de IgG en los eritrocitos en la PAD, se les realizó el ensayo inmunoenzimático de antiglobulina directa (EIAD). Este ensayo se realizó según la técnica comunicada previamente⁷ con algunas modificaciones.⁸

Las determinaciones de hemoglobina y el conteo de reticulocitos se realizaron mediante las técnicas habituales.

Se utilizó la t pareada para la comparación de las medias de las cifras de hemoglobina y el conteo de reticulocitos de los pacientes con LMC antes y después del tratamiento con IFN α . La probabilidad exacta de Fisher se utilizó para determinar si existía asociación entre la duración del tratamiento con IFN y la presencia o ausencia en los hematíes de IgG y C₃ detectados en la PAD o la reacción positiva en el EIAD.

ESTUDIO DE OTROS AUTOANTICUERPOS

Se investigó la presencia de anticuerpos antinucleares y anticitoplasmáticos por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) con el empleo de láminas recubiertas con monocapas de células Hep-2.⁹ Los anticuerpos anti-mitocondriales, antimúsculo liso y anti-parietales se investigaron con la técnica de IFI en láminas con cortes de hígado y estómago de rata.¹⁰

TABLA 1. Autoanticuerpos eritrocitarios en pacientes con leucemia mieloide crónica en tratamiento con IFN α

Pacientes (n)	IgG	C ₃	EIAD	PAD		Especificidad
				Eluido %	Suero %	
5	+	+	+	+ (100)	+ (80)	Panaglutinina
7	0	+	+	+ (42,8)	+ (100)	Panaglutinina
4	0	0	+	+ (33,3)	+ (100)	Panaglutinina

PAD: prueba de antiglobulina directa (Coombs); EIAD: ensayo inmunoenzimático de antiglobulina directa.

El factor reumatoideo se realizó por la técnica de aglutinación en partículas de látex. El anticoagulante lúpico se estudió por la técnica del veneno de víbora de Russell.¹¹

RESULTADOS

PACIENTES CON LMC

Se detectaron autoanticuerpos eritrocitarios en 16 pacientes (80 %) con tratamiento con IFN α (tabla 1). Dentro de este grupo, la prueba de antiglobulina directa reveló la presencia de IgG y C₃ en los eritrocitos de 5 pacientes (31,25 %). Los autoanticuerpos recuperados en el eluato de los hematíes se comportaron como panaglutininas. En 4 pacientes los autoanticuerpos se detectaron en el suero.

El fragmento C₃ del complemento se encontró en los hematíes de 7 pacientes (43,75 %) y la presencia de IgG se demostró en el EIAD. Los autoanticuerpos se identificaron en el eluato de los eritrocitos de 3 casos y en el suero de todos los pacientes de este grupo.

El EIAD detectó la presencia de IgG en los eritrocitos de 4 casos (25 %) en los que la prueba de Coombs directa resultó negativa. En este grupo los autoanticuerpos se detectaron en el suero de todos los pacientes y en el eluato de un caso.

Los títulos de crioaglutininas se comportaron dentro del rango normal y la prueba de anticuerpos bifásicos de Donath-Landsteiner fue negativa en todos los casos.

No se detectaron autoanticuerpos eritrocitarios en 4 pacientes que recibieron tratamiento con IFN ni en el grupo de pacientes no tratados.

No se demostró asociación entre la duración del tratamiento con IFN α y la ausencia o presencia de IgG y C₃ en los hematíes detectados en PAD o en EIAD (tabla 2). Las cifras de hemoglobina antes y después del tratamiento no mostraron diferencias, los reticulocitos se elevaron significativamente ($p < 0,05$) después del tratamiento con el fármaco (tabla 3).

TABLA 2. Detección de autoanticuerpos y complemento en los eritrocitos de los pacientes con leucemia mieloide crónica y su relación con el tiempo de tratamiento con IFN α .

Pacientes	PAD	EIAD	Tiempo de tratamiento con IFN (meses)
1	IgG, C ₃	NR	3
2	IgG, C ₃	NR	4
3	IgG, C ₃	NR	3
4	IgG, C ₃	NR	7
5	IgG, C ₃	NR	48
6	C ₃	IgG	66
7	C ₃	IgG	48
8	C ₃	IgG	12
9	C ₃	IgG	1
10	C ₃	IgG	12
11	C ₃	IgG	12
12	C ₃	IgG	12
13	Negativo	IgG	96
14	Negativo	IgG	72
15	Negativo	IgG	36
16	Negativo	IgG	1
17	Negativo	Negativo	24
18	Negativo	Negativo	60
19	Negativo	Negativo	4
20	Negativo	Negativo	2

NS $p^* = 0,0769$

PAD: prueba de antiglobulina directa (Coombs); EIAD: ensayo inmunoenzimático de antiglobulina directa; NS: no significativo; *: probabilidad exacta de Fisher; NR: no realizado.

Se identificaron otros autoanticuerpos en 5 pacientes (25 %) que recibían tratamiento con IFN; en 3 de ellos se observaron autoanticuerpos de más de una especificidad y se detectaron autoanticuerpos en 2 pacientes (16 %) del grupo que no recibió tratamiento con IFN (tabla 4).

En los pacientes con LMC tratados con IFN α y con autoanticuerpos, no se manifestaron síntomas de anemia hemolítica autoinmune o de otras enfermedades autoinmunes.

PACIENTES CON OTRAS ENFERMEDADES LINFOPROLIFERATIVAS

En este grupo se detectaron autoanticuerpos eritrocitarios en 3 pacientes

(23 %). En éstos la prueba de Coombs directa fue positiva por la presencia de C_3 y los autoanticuerpos se identificaron en el eluato de los hematíes. En una paciente con enfermedad de Hodgkin se constataron síntomas de anemia hemolítica autoinmune después de 10 semanas de tratamiento con IFN (α_2b). Los hallazgos inmunohematológicos y el curso clínico de este caso fueron publicados previamente.⁸

En este grupo se detectaron además anticuerpos antinucleares y antiparietales en el suero de 2 pacientes (15,3 %). Excepto en el caso descrito con AHAI, en los demás pacientes con autoanticuerpos no se manifestaron síntomas de enfermedades autoinmunes.

TABLA 3. Cifras de hemoglobina y número de reticulocitos antes y después del tratamiento con IFN α en los pacientes con leucemia mieloide crónica

Paciente (No.)	Hemoglobina (g/L)		Reticulocitos ($\times 10^{-3}$)	
	Antes del tratamiento	Después del tratamiento	Antes del tratamiento	Después del tratamiento
1	90	108	22	20
3	126	120	3	24
4	152	123	2	4
5	132	134	2	12
6	134	143	2	30
7	145	137	3,4	18
8	133	128	3	8
9	145	147	8	50
10	104	107	2	28
11	97	104	3,4	22
13	140	95	16	50
14	104	104	2	30
15	153	151	1	30
16	113	119	6	2
17	149	124	2	50
18	110	114	30	8
X \pm DS	126,6 \pm 20,9	122,3 \pm 16,7 NS	6,7 \pm 8,4	24,1 \pm 15,8 *p < 0,005

NS: no significativo; * :t pareada.

TABLA 4. Autoanticuerpos en pacientes con leucemia mielóide crónica tratados y no tratados con IFN α .

Autoanticuerpos	Pacientes tratados n=20		Pacientes no tratados n=12	
	Cantidad	%	Cantidad	%
Anticuerpos antiparietales	4	21	0	0
Antimúsculo liso	1	5,2	0	0
Anticitoplasmático	1	5,2	0	0
Antinucleares	0	0	1	16
Antimitocondriales	0	0	0	0
Factor reumatoideo	2	15	1	16
Anticoagulante lúpico	0	0	0	0

DISCUSIÓN

El IFN α provoca alteraciones del sistema inmune que se han relacionado con la inducción de autoinmunidad.¹

La presencia de autoanticuerpos eritrocitarios únicamente en el grupo de pacientes que se le administró el IFN apoyan estas sugerencias. En un gran número de ellos, la prueba de Coombs directa reveló únicamente la presencia de fragmento C₃ del complemento en los eritrocitos y los autoanticuerpos eritrocitarios se detectaron predominantemente en el suero, en el eluido de los hematíes o con el empleo de ensayos sensibles como el EIAD. La detección de anticuerpos séricos y no demostrables sobre los eritrocitos se relaciona con la presencia de autoanticuerpos de baja afinidad o con una depresión marcada de los antígenos eritrocitarios específicos.¹² Aunque los autoanticuerpos eritrocitarios identificados no mostraron, en su gran mayoría, especificidad definida para los antígenos de los eritrocitos, se conoce que éstos están dirigidos contra todo el sistema Rh¹³ y en los pacientes estudiados no se demostró depresión de los antígenos de este sistema (datos no mostrados). Estos hallazgos no se asociaron con la duración del tratamiento con IFN.

Los resultados obtenidos en los pacientes con autoanticuerpos eritrocitarios difieren de los observados comúnmente en las anemias hemolíticas autoinmunes calientes, donde el C₃ se identifica como única inmunoproteína solamente del 7 al 14 % de los casos y la frecuencia de PAD negativa con anticuerpos demostrables en el EIAD es del 1 %.¹³ Sin embargo, la presencia de autoanticuerpos eritrocitarios de la clase IgG reactivos a 37 °C en la prueba de Coombs, identificados en el grupo de pacientes con tratamiento con IFN α , son compatibles con la anemia hemolítica autoinmune caliente y las inducidas por alfa-metildopa.¹³ En los pacientes con LMC, las cifras de hemoglobina antes y después del tratamiento no mostraron variaciones y aunque se observó reticulocitosis después del tratamiento, no se relacionó con manifestaciones clínicas de anemia hemolítica.

La ausencia de hemólisis inmune en presencia de autoanticuerpos eritrocitarios puede estar determinada por múltiples factores, dentro de los que se encuentran la actividad biológica de los anticuerpos, la concentración de anticuerpos unidos a los hematíes *in vivo*, las características de los antígenos específicos y la eficiencia del sistema mononuclear-fagocítico de los pacientes.¹⁴ Por otra parte, las interacciones idiotipos anti-idiotipos se han invocado como reguladoras de la acción de los autoanticuerpos eritrocitarios, al demostrarse anticuerpos anti-Fab unidos a los autoanticuerpos eritrocitarios en donantes de sangre con PAD positiva con cifras normales de hemoglobina.¹⁵

La presencia de estos autoanticuerpos eritrocitarios sin significación clínica demostrados en el grupo estudiado, puede causar resultados positivos en las pruebas de compatibilidad pretransfusional no relacionada con la aloinmunización por

transfusiones. Estos hallazgos deben considerarse al transfundir a los pacientes que reciben tratamiento con IFN α , para definir en cada caso la relevancia clínica de los anticuerpos eritrocitarios identificados y decidir la transfusión.

Hasta el momento, son escasas las comunicaciones de estudios de autoanticuerpos eritrocitarios inducidos por el IFN α . Todos los informes se han realizado en pacientes con AHAI después del tratamiento con el fármaco.^{3,4} El interferón puede inducir la autoinmunidad al alterar el sistema inmune a través de la inhibición de la actividad supresora por una disminución de los linfocitos CD8 o al modificar la membrana de los hematíes transformándolas en antigénicas.⁵

Asociado con el tratamiento con IFN α también se ha detectado la presencia de autoanticuerpos en relación con otras enfermedades autoinmunes, como la hepatitis autoinmune, la anemia perniciosa, enfermedades del tiroides y vasculitis.¹⁶ Por otra parte, se ha señalado que en el 15 al 20 % de los pacientes con tratamiento con IFN se observan síntomas de enfermedades autoinmunes.¹⁶⁻¹⁸

En este estudio los autoanticuerpos detectados con mayor frecuencia fueron los antiparietales, antimúsculo liso y anticitoplasmático, que están asociados con las enfermedades autoinmunes antes mencionadas. Sin embargo, en el grupo de pacientes tratados con INF en que se identificaron estos anticuerpos, no hubo evidencias de estas enfermedades. Esto es un aspecto importante, ya que el desarrollo de enfermedades autoinmunes conllevaría a discontinuar el tratamiento con el fármaco a los pacientes, y por lo tanto, privarlos de los efectos beneficiosos de éste. Por otra parte, la presencia de los autoanticuerpos en la LMC se ha relacionado con la remisión, ya que en el 70 % de los pacientes con autoanticuerpos inducidos por el IFN α se ha logrado una respuesta citogenética favorable.¹⁹ Al parecer, el INF más adecuado para el tratamiento de esta enfermedad es aquél que induce la presencia de autoanticuerpos con bajas incidencias de enfermedades autoinmunes, características éstas que se observaron en el curso del tratamiento con el IFN α en nuestro grupo de estudio.

SUMMARY

Presence of autoantibodies in 45 patients with hematologic diseases was studied: 32 cases of chronic myeloid leukemia (CML) and 13 cases of other lymphoproliferative diseases (LPD). All cases of LPD and other 20 of CML, were treated with natural Alpha-interferon (IFN) or recombinant Alpha 2b, when study was performed. Mean length of treatment was of 27 months (1-96), and mean dosis given was of 3 millions, three times a week. Erythrocytic autoantibodies were found in 16 cases (80%) where CML was treated with IFN, but neither in 4 patients given IFN nor in non treated patients groups. In 5 cases (26%) given IFN, and in other two (12%), without treatment, other types of autoantibody were found. In cases with autoantibodies there weren't manifestations of autoimmune hemolytic anemia (AHA) or of other autoimmune diseases. In cases with LPD, we found autoantibodies and antinuclear in 2 (14,3%). In a case of Hodgkin's disease, AHA was diagnosed within 10 weeks of IFN-treatment.

Subject headings: ANTIBODIES; INTERFERON ALPHA/therapeutic use; HEMATOLOGIC DISEASES/therapy.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pestkas S, Langer JA, Zeon KC, Samuel CE. Interferon and their actions. *Annu Rev Biochem* 1987;56:727-35.
2. Roth MS, Foon KA. Alpha interferon in the treatment of hematologic malignancies. *Am J Med* 1986;81:871-9.
3. Akard LP, Hoffman R, Elias L, Salets JH. Alpha interferon and immune hemolytic anemia. *Ann Intern Med* 1986;105:306.
4. Fornaciari G, Bassi C, Beltrami M, Castaginetti E, Maccari S, Plancher AC. Hemolytic anemia secondary to interferon treatment for chronic B hepatitis. *J Clin Gastroenterol* 1991;13:596-7.
5. Barbolla L, Paniagua C, Outeriño J, Prieto F, Sánchez Fayos J. Haemolytic anemia to the alpha interferon treatment: a proposal mechanism. *Vox Sang* 1993;65:156-7.
6. Contreras M, Knight RC. General approach to blood transfusion and immunohaematology and red blood cell serology. En: Chanarin I. *Laboratory haematology*. London:Churchill Livingstone, 1989:403-33.
7. Sokol RJ, Hewitt S, Booker DJ, Stamps R, Bodth JR. An enzyme linked direct antiglobulin test for assesing erythrocyte bound immunoglobulin. *J Immunol Meth* 1988;106:117-9.
8. Bencomo AA, Alfonso ME, Basanta P, Hernández P. Anemia hemolítica autoinmune inducida por interferón alfa. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1995;11:135-8.
9. Kokuina E, Pérez E, Gerónimo H. Células Hep 2 como sustrato para la determinación de anticuerpos antinucleares. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1991;7:62-3.
10. Peter JB. Use and interpretation of test in clinical immunology. 8th ed. Specialty Laboratories Inc, 1992.
11. Díaz A, Rubio R, Almagro D. Estandarización de la técnica del veneno de víbora Russell diluído para el diagnóstico del anticoagulante lúpico. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1991;7:126-33.
12. Engelfriet CP, Overbeeke MAM, Borne AEGK von dem. Autoimmune hemolytic anemia. *Semin Hematol* 1992;29:3-12.
13. Petz LD, Garraty G. *Acquired immune hemolytic anemia*. New York:Churchill Livingstone, 1980:232-3.
14. Garraty G. Factor affecting the pathogenicity of red cell auto and alloantibodies. En: Nance SJ, ed. *Immune destruction of red blood cells*. Arlington:AABB, 1989:109-69.
15. Masouredis SP, Branks MJ, Victoria EJ. Antiidiotype IgG crossreactive with Rh alloantibodies in red autoimmunity. *Blood* 1987;70:710-5.
16. Terrault N, Feinman SV. Interferon for viral hepatitis. *Transfus Med Rev* 1995;10:29-52.
17. Fattovich G, Betterle C, Brollo L. Antibodies during alpha interferon therapy for chronic hepatitis. *B J Med Virol* 1991;34:132 .
18. Wandl VB, Nagel Hiemke M, May D, Kreuzfelder E, Kloke O, Kranzhoff M, et al. Lupus like autoimmune disease induced by interferon therapy for myeloproliferative disorders. *Clin Immunol Immunopathol* 1992;65:70-4.
19. Labardini Méndez JR, Cortés J, Talpaz M, Velázquez A. Leucemias crónicas. *Invest Cin* 1995;47:94-102.

Recibido: 26 de abril de 1999. Aprobado: 17 de julio de 1999.

Lic. *Antonio A. Bencomo Hernández*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf: (537) 578268. Fax: (537) 338979. e mail:ihidir@hematol.sld.cu