

Instituto de Hematología e Inmunología

## ALTERACIONES DE LAS SUBCLASES DE IgG EN PACIENTES CON ANEMIA DREPANOCÍTICA

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 Dr. Porfirio Hernández Ramírez

### RESUMEN

Se cuantificaron los niveles de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 mediante inmunodifusión radial simple en un grupo de 46 pacientes con anemia drepanocítica (AD) (hemoglobina SS) en estado basal, 21 sin complicaciones clínicas y 25 con complicaciones clínicas referentes a número de infecciones, úlceras maleolares, crisis vasooclusivas, hepáticas y aplásticas, considerando como límite un año anterior a la toma de muestra de sangre. Se demostró un aumento significativo de IgG1 e IgG2 en el grupo de pacientes con complicaciones clínicas en comparación con el resto de los pacientes y controles normales. Se observó una correlación significativa entre el número de crisis vasooclusivas y las concentraciones de IgG1, IgG2 e IgG4. Nuestros resultados sugieren la posibilidad de que algunos fenómenos inflamatorios que pueden persistir en pacientes con AD en estado basal, fundamentalmente aquellos con historia anterior de complicaciones clínicas, pudieron provocar un aumento en la síntesis de IgG1 e IgG2.

DeCS: IGG/análisis; ANEMIA/complicaciones; SISTEMA INMUNE/anomalías.

Los pacientes con anemia drepanocítica (AD) (hemoglobina SS) cursan con anemia hemolítica crónica, alta susceptibilidad a infecciones y episodios dolorosos agudos llamados crisis vasooclusivas.<sup>1</sup> En estos pacientes se han descrito numerosas alteraciones del sistema inmune innato y adquirido. Se han comunicado incrementos moderados de reactantes de fase aguda como la proteína C reactiva, amiloide sérico A, orosomucoide y el leucotrieno C4 en pacientes en estado basal, lo que evidencia un estado repetido o persistente de inflamación.<sup>2-6</sup> Los

procesos sépticos predominantes son los causados por bacterias encapsuladas, como el *Streptococcus pneumoniae* y el *Hemophilus influenzae*.<sup>7</sup> Diversos investigadores han relacionado las infecciones en la AD con el desencadenamiento de fenómenos inflamatorios como la IL-1, TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$ .<sup>8,9</sup> Esta elevada frecuencia de infecciones se atribuye, en gran medida, a una disminución de la función esplénica, así como alteraciones en la activación de la vía alternativa del complemento y de otros componentes del sistema inmune.<sup>10,11</sup>

Los trabajos que evalúan las concentraciones de las subclases de IgG resultan escasos y contradictorios. Algunos reportes refieren el hallazgo de hipergammaglobulinemia, fundamentalmente de la clase IgG, donde la IgG1 e IgG3 son las predominantes.<sup>12,13</sup> Otros autores plantean una reducción de IgG2.<sup>14</sup> En nuestro trabajo nos propusimos investigar los niveles de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 en pacientes con AD en estado basal clasificados de acuerdo con la evolución clínica de la enfermedad.

## MÉTODOS

Se estudiaron 48 pacientes provenientes del Departamento de Clínica de Adultos del Instituto de Hematología e Inmunología, 30 mujeres y 16 hombres con un promedio de edad de 30 años y un rango de 18 a 58 años, con el diagnóstico de AD (hemoglobina SS) en estado basal y sin síntomas ni signos clínicos de infecciones, úlceras o crisis, así como sin requerimientos transfusionales en los últimos 3 meses. Se revisaron las historias clínicas de los pacientes y se analizó la evolución de la enfermedad en el año previo al estudio para establecer la existencia o no de complicaciones clínicas en algún momento de ese período, lo que permitió su clasificación en 2 grupos: uno sin manifestaciones clínicas y un segundo grupo en el que habían ocurrido una o varias complicaciones clínicas como infecciones, úlceras maleolares, crisis vasooclusivas, crisis hepáticas o crisis aplásticas. Las cifras de hemoglobina y de reticulocitos se determinaron mediante las técnicas habituales a partir de la muestra de sangre periférica extraída por punción venosa. El suero obtenido se conservó a -30 °C hasta

su uso. Los sueros controles se obtuvieron y se conservaron en las mismas condiciones.

Los niveles de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 se evaluaron por inmunodifusión radial simple empleando placas comerciales (PellRide, CLB, Amsterdam). El método está basado en la precipitación del complejo formado luego de la unión en equivalencia del antígeno que difunde a través de un soporte de agarosa mezclado con el antisuero específico.<sup>15</sup>

Los valores normales de las variables estudiadas se obtuvieron a partir de 20 sujetos sanos con características similares a la de los enfermos en cuanto a edad y sexo.

Se calcularon la media y la desviación estándar de los controles normales y de los pacientes con y sin complicaciones clínicas. Para la comparación entre los 2 grupos y de cada uno con los controles normales se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. Se determinaron las correlaciones entre la concentración de las subclases de IgG y el número de las diferentes complicaciones clínicas, así como con las cifras de hemoglobina y reticulocitos. Se consideró un nivel de confianza del 95 %.<sup>16</sup>

## RESULTADOS

Se observó un aumento significativo de IgG1 e IgG2 en los pacientes con antecedentes de complicaciones clínicas en el último año previo al estudio al compararlos con el grupo sin complicaciones previas y controles normales (tabla 1).

Se demostró una asociación significativa entre IgG1-crisis vasooclusivas, IgG2-crisis vasooclusivas e IgG4-crisis vasooclusivas. El resto de las correlaciones no mostraron significación (tabla 2).

TABLA 1. Comparación de los niveles de las subclases de IgG entre los grupos de pacientes con anemia drepanocítica y con los controles normales

Subclases de IgG (g/L)	Anemia drepanocítica		Controles normales (n = 20)
	Con complicaciones (n = 25)	Sin complicaciones (n = 21)	
IgG1	11,56 ± 1,32*	8,98 ± 1,12	8,32 ± 1,25
IgG2	6,18 ± 0,73*	4,59 ± 0,96	4,78 ± 0,93
IgG3	0,56 ± 0,17	0,55 ± 0,15	0,49 ± 0,10
IgG4	1,05 ± 0,27	0,95 ± 0,17	0,99 ± 0,14

\* Diferencia significativa con respecto a los controles normales y al grupo de pacientes sin complicaciones, para una  $p < 0,001$ . n: Número de pacientes.

TABLA 2. Correlaciones entre las subclases de IgG y las variables clínicas y hematológicas en los pacientes con anemia drepanocítica

VARIABLES	IgG1 (r)	IgG2 (r)	IgG3 (r)	IgG4 (r)
Crisis vasooclusivas	,6646*	,5992*	,2577	,5461*
Otras crisis	,2643	,1988	-,0678	,0023
Infecciones	,3516	,2264	-,0460	,0572
Úlceras maleolares	-,0575	,0273	,0991	,0226
Hemoglobina	-,0590	-,1274	-,1650	-,0673
Reticulocitos	-,0019	-,0709	,1047	,0854

\* Diferencia significativa,  $p < 0,001$ .

(r): Coeficiente de correlación lineal.

## DISCUSIÓN

El aumento de la susceptibilidad a infecciones en la AD tiene un origen multifactorial. Alteraciones en la activación de los linfocitos T, una disminución de la actividad de la vía alternativa del complemento, la pérdida de las funciones del bazo, los trastornos de la migración y opsonización, están entre las causas de la incapacidad de estos individuos para enfrentar, limitar y eliminar las sepsis.<sup>10,11</sup>

Se ha planteado la participación defectuosa de los anticuerpos como otra posibilidad en el compromiso de la capacidad de respuesta de estos individuos. Sin embargo, los hallazgos son contradictorios. *Natta* y otros<sup>14</sup> encontraron

una reducción de IgG2, la subclase que predomina en la respuesta de polisacáridos. Otros autores han referido hipergammaglobulinemia, particularmente a expensas de IgG1 e IgG3, ya sea de especificidad conocida o no.<sup>12,13</sup> En nuestro estudio, los enfermos sin complicaciones en el año previo mantuvieron concentraciones de todas las subclases dentro de límites normales. En el grupo de pacientes con complicaciones clínicas previas se demostró un aumento significativo de los niveles de IgG1 e IgG2 al compararlos con el grupo sin complicaciones y controles normales, lo que habla a favor de una activación policlonal. También se obtuvo una asociación significativa entre la frecuencia de crisis vasooclusivas y las concentraciones de IgG1, IgG2 e IgG4.

En los pacientes con AD en estado basal pueden ocurrir repetidamente procesos inflamatorios subclínicos, debidos a fenómenos isquémicos microvasculares que se producen por la adhesión al endotelio de reticulocitos anormales, que provocan un estasis del flujo y obstrucción de los vasos. Estos trastornos frecuentemente se resuelven espontáneamente, pero pueden progresar para convertirse en sintomáticos.<sup>17</sup> Resulta evidente, de acuerdo a los datos obtenidos en nuestro trabajo, que existen pacientes cuya capacidad para dar solución a las consecuencias de los fenómenos isquémicos microvasculares, es superior a otros casos que presentan manifestaciones clínicas con relativa frecuencia y que, por tal motivo, pueden liberar a la circulación citocinas y otros mediadores, provocando una disregulación del sistema inmune y entre otras alteraciones, una activación policlonal inespecífica de los linfocitos B, de ahí los niveles elevados de IgG1 e IgG2, así como la significativa asociación

demostrada de estas subclases, como de la IgG4, con las crisis vasooclusivas. La inespecificidad de la activación linfocitaria sería un factor favorecedor de la elevada frecuencia de infecciones que se observan en estos pacientes, al no contar ellos con anticuerpos específicos contra ellas. En relación con la asociación IgG4-crisis vasooclusiva, es conocido que la elevación de los niveles de IgG4 se produce tras inmunizaciones repetidas,<sup>18,19</sup> lo que puede compararse con los fenómenos inflamatorios repetidos que ocurren en estos pacientes.

El hecho de que en la muestra de pacientes puedan distinguirse 2 grupos según la evolución de la enfermedad, indica la heterogeneidad biológica de los individuos y de su capacidad de respuesta, de ahí que difieran en la frecuencia y severidad de las crisis, resistencia a infecciones y en otras complicaciones. Investigaciones futuras seguramente contribuirán a definir la importancia que puedan tener las diferentes subclases de IgG en la AD.

## SUMMARY

---

A single radial immunodiffusion method was used to quantify IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4 levels in a group of 46 patients with sickle cell anemia (hemoglobin SS) in basal state; 21 of them had no clinical complications and 25 had clinical complications referring to number of infections, melleolar ulcers, vasocclusive, hepatic and aplastic crises. One year before the blood-sample taking was set as the limit. A significant increase of IgG1 and IgG2 was observed in patients with clinical complications compared with the rest of patients and the normal controls. There was a significant correlation between the number of vasocclusive crises and the IgG1, IgG2 and IgG4 concentrations. Our results show the possibility that some inflammatory phenomena, which might persist in patients with sickle cell anemia in basal state- mainly in those with a history of clinical complications-, could cause an increased synthesis of IgG1 and IgG2.

*Subject headings:* IGG/analysis; ANEMIA/complications; IMMUNE SYSTEM/abnormalities.

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bunn HF. Disorders of hemoglobin. En: Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL (eds). Principles of Internal Medicine. 13<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill, 1994:1033-9.
2. Villaescusa R, Arce AA, Guerreiro AM, Merlín JC, Espinosa E. Alteraciones del sistema complemento y proteína C reactiva en la anemia drepanocítica. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter 1994;10(1-2):2-84.
3. Singhal A, Doherty JF, Raynes JG. Is there an acute-phase response in steady state sickle cell disease? Lancet 1993;341:651-3.
4. Hedo CC, Akenova YA, Okpala IE. Acute phase reactants and severity of homozygous sickle cell disease. J Intern Med 1993;233:467-70.
5. Monnet D, Diallo I, Sangre A, Yapo AE. Clinical value of C-reactive protein, alpha 1-glycoprotein acid and transferrin assay in homozygous sickle cell disease. Bull Soc Pathol Exot 1993;86:282-5.
6. Ibe BO, Kurantsin-Mills J, Usha Raj J, Lessin LS. Plasma and urinary leukotrienes in sickle cell disease: possible role in inflammatory process. Eur J Clin Invest 1994;24:57-64.
7. Steinberg MH. Hemoglobinopathies and thalassemias. En: Stein JH (ed). Internal Medicine. 4<sup>th</sup> ed. St. Louis Mosby, 1994:852.
8. Wright CS, Gardner E. A study of the role of acute infection in precipitating crises in chronic hemolytic states. Ann Intern Med 1960;52:530-7.
9. Serjeant GR. The painful crisis. En: Sickle Cell Disease. Oxford: Oxford University Press, 1992:245-60.
10. Cetiner S, Akoglu FF, Kilinc Y, Akoglu E, Kinin M. Immunological studies in sickle cell disease: Comparison of homozygote mild and severe variants. Clin Immunol Immunopathol 1989;53(1):32-9.
11. Villaescusa R, Arce AA, Guerreiro AM, Merlín JC, Espinosa E. Estudio seriado del sistema complemento e inmunocomplejos circulantes en la anemia drepanocítica. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter 1995;11(1):18-24.
12. Hedo C, Akenova Y, Okpala I, Salimonu L. Serum immunoglobulin (G, A and M) classes and IgG subclasses in sickle cell anemia. APMIS 1993;101(5):353-7.
13. Mohapatra BN, Dash BP, Kar BC. Serum immunoglobulin in sickle cell disease. J Assoc Physicians India 1993;41(7):418-9.
14. Natta CI, Outschoorn IM. IgG2 deficiency in sickle cell disease. Scand J Hematol 1984;33(2):129-34.
15. Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF. A single radial diffusion method for the immunological quantitation of proteins. Peters H (ed). Int Prot Biol Fluids 11<sup>th</sup> Colloqu. Bruges, Oxford: Pergamon Press, 1964:370-3.
16. Siegel S. Diseño experimental no paramétrico. Ciudad México: Editorial F. Trillas S. A. 1970:215-25.
17. Moore CM, Ehlayel M, Leiva LE, Sorensen RU. New concepts in the immunology of sickle cell disease. Ann Allergy Asthma Immunol 1996;76(5):385-403.
18. Meulenbroek AJ, Zeijimaker WP. Human IgG subclasses: useful diagnostic markers for immunocompetence. Amsterdam, CLB;1986.
19. Oliveira DBG. Membranous nephropathy: an IgG4-mediated disease. Lancet 1998;351(9103):670-1.

Recibido: 7 de septiembre del 2001. Aprobado: 17 de septiembre del 2001.

Lic. **Rinaldo Villaescusa Blanco**. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800, Cuba. Teléf: (537)578268, 544214, Fax:(537) 338979. e-mail:ihidir@hemato.sld.cu