

Instituto de Hematología e Inmunología

## POSIBLE PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA COMPLEMENTO EN EL DESARROLLO DE MANIFESTACIONES AUTOINMUNES EN LA LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA

Lic. Rinaldo Villaescusa Blanco, Lic. Antonio Bencomo Hernández, Lic. Ada A. Arce Hernández, Lic. Julio C. Merlín Linares, Lic. Ana M. Guerreiro Hernández, Lic. Luz M. Morera Barrios y Dr. Porfirio Hernández Ramírez

### RESUMEN

Se efectuó la medición de la actividad de la vía clásica, alternativa, factor B, factor D, así como la cuantificación de C1q, C3 y C4 del sistema complemento en 27 pacientes con leucemia linfocítica crónica de tipo B (LLC-B) CD5+ estadificados en 2 grupos: 12 pacientes en fase poco avanzada de la enfermedad (estadios 0, I, II) y 15 en fase avanzada (estadios III, IV). Se demostró una disminución de la actividad de la vía clásica y de la concentración de C1q y C4 en 10 pacientes en fase avanzada, 7 de los cuales tenían asociada una anemia hemolítica autoinmune (AHAI); en el grupo en fase poco avanzada de la enfermedad no se demostraron deficiencias de complemento ni manifestaciones autoinmunes. Los datos obtenidos sugieren la posible participación del sistema complemento en el mantenimiento de la tolerancia inmunológica, cuya ruptura pudiera provocar la síntesis de anticuerpos antieritrocitarios, y por lo tanto, la anemia hemolítica que se asocia en determinados pacientes en fase avanzada de la enfermedad.

*DeCS:* LEUCEMIA CRONICA DE CELULA B/inmunología; ENFERMEDADES AUTOINMUNES; COMPLEMENTO/inmunología; ANEMIA HEMOLITICA AUTOINMUNE/inmunología.

Con la leucemia linfocítica crónica (LLC) se asocian frecuentemente trastornos de la regulación inmune y fenómenos de autoinmunidad, y es la anemia hemolítica autoinmune (AHAI) una de las enfermedades que comúnmente se presenta.<sup>1</sup> La LLC-B se caracteriza por la acumulación de linfocitos B CD5+, los cuales se relacionan con la producción de autoanticuerpos naturales. Se ha planteado

también la participación de estas células en la patogénesis de la AHAI y se ha sugerido una posible relación causal entre las células B CD5+ de ambas enfermedades.<sup>2</sup> La presencia de autoanticuerpos contra los eritrocitos en algunos pacientes con LLC-B con AHAI no está esclarecida. Se ha señalado que los anticuerpos expresados por las células B leucémicas CD5+ no se unen directamente con los eritrocitos, lo que

indica que estos no están involucrados en su destrucción; se plantea que dichos anticuerpos antieritrocitarios son producidos por células B normales remanentes.<sup>3</sup>

En diversas investigaciones se ha observado una asociación entre deficiencias de los componentes iniciales de la vía clásica del complemento con enfermedades autoinmunes, lo que sugiere cierta participación del complemento en el mantenimiento de la tolerancia inmune.<sup>4,5</sup> En trabajos anteriores se han demostrado deficiencias del complemento en pacientes con LLC-B CD5+ en las fases más avanzadas de la enfermedad.<sup>6</sup> En nuestro trabajo nos propusimos estudiar la actividad del sistema complemento y los niveles de algunos de sus componentes en un grupo de pacientes con LLC-B CD5+, en diferentes estadios, con AHAI asociada en algunos de los casos, con el objetivo de establecer el posible papel del sistema complemento en el desarrollo de enfermedades autoinmunes en la LLC.

## MÉTODOS

Se estudiaron 27 pacientes con el diagnóstico de LLC-B CD5+: 16 hombres y 11 mujeres, con una edad promedio de 60 años (rango de 42 a 73 años). Los enfermos se estadificaron acorde con la clasificación de Rai.<sup>7</sup> Doce pacientes se encontraban en fase poco avanzada de la enfermedad (estadios 0, I, II) y 15 en fase avanzada (estadios III, IV). Siete de los pacientes en fase avanzada de la enfermedad eran portadores de AHAI. En el momento del estudio ninguno de los pacientes tenía infección clínicamente manifiesta ni esta

pudo evidenciarse mediante cultivos microbiológicos.

La sangre se obtuvo por punción venosa y se conservó a -30 °C. Los sueros controles se obtuvieron y conservaron en las mismas condiciones.

En todas las muestras estudiadas se midió la actividad de las vías clásica, alternativa, factor B, factor D y se cuantificaron los componentes C1q, C3 y C4 del sistema complemento.

La actividad hemolítica de la vía clásica se determinó de acuerdo con el método descrito por Mayer,<sup>8</sup> y la vía alterna según lo propuesto por Platts-Mills y otros.<sup>9</sup> La actividad funcional del factor B y el factor D de la vía alterna se midieron por los métodos descritos anteriormente.<sup>10,11</sup>

Los niveles de C1q, C3 y C4 se cuantificaron por inmunodifusión radial simple,<sup>12</sup> para lo cual se emplearon placas de cuantificación elaboradas en nuestro laboratorio. Para los valores de referencia, las pruebas anteriormente mencionadas se realizaron en 30 sujetos sanos.

## RESULTADOS

Se demostró una disminución de la actividad del factor B, C3 y de la vía alternativa en 1 paciente (8,3 %), de los 12 con LLC-B CD5+ en fase poco avanzada de la enfermedad (estadios 0, I, II), ninguno era portador de AHAI. En cambio, 10/15 (66,6 %) pacientes en fase avanzada (estadios III, IV) presentaron fundamentalmente una disminución de los componentes C1q, C4 y de la actividad de la vía clásica del complemento, 7 de los cuales tenían asociada una AHAI (tablas 1,2).

TABLA 1. Niveles de complemento en pacientes con leucemia linfocítica crónica en fase poco avanzada de la enfermedad

Enfermo No.	Estadio clínico	VC (CH50)	VA (%)	FB (%)	FD (%)	Clq (%)	C3 (g/L)	C4 (g/L)	AHAI
1	0	27,3	91,3	82,8	92,2	89,1	1,71	0,33	Neg
2	0	26,3	90,4	82,3	93,0	87,2	1,86	0,29	Neg
3	0	26,5	88,5	80,4	87,3	90,3	1,90	0,31	Neg
4	0	27,1	95,1	92,2	84,5	91,5	1,87	0,34	Neg
5	0	25,4	96,4	93,3	89,0	92,3	2,01	0,40	Neg
6	0	29,2	87,2	90,1	90,1	90,4	1,91	0,39	Neg
7	0	27,3	89,2	88,8	89,3	87,2	1,89	0,42	Neg
8	I	30,2	90,6	87,4	85,3	88,0	1,94	0,36	Neg
9	I	29,3	94,0	91,1	92,2	94,6	2,02	0,30	Neg
10	I	28,4	99,0	96,3	97,1	92,2	1,79	0,42	Neg
11	II	31,1	79,2	73,4	87,4	84,3	1,60	0,41	Neg
12	II	29,0	92,0	94,2	88,0	87,6	1,86	0,37	Neg
Control Normal		27,5 ± 6,5	98,0 ± 16,0	100 ± 24,0	95,0 ± 14,0	91,5 ± 7,5	2,02 ± 0,34	0,35 ± 0,15	

VC: vía clásica; VA: vía alternativa; FB: factor B; FD: factor D; AHAI: anemia hemolítica autoinmune.

TABLA 2. Niveles de complemento en pacientes con leucemia linfocítica crónica en fase avanzada de la enfermedad

Enfermo No.	Estadio clínico	VC (CH50)	VA (%)	FB (%)	FD (%)	Clq (%)	C3 (g/L)	C4 (g/L)	AHAI
1	III	27,1	90,1	79,5	89,2	86,2	1,74	0,34	Neg
2	III	26,2	91,2	82,2	92,1	89,3	1,84	0,41	Neg
3	III	28,3	88,7	81,4	88,8	91,3	1,81	0,32	Neg
4	III	26,1	92,4	78,1	87,1	87,4	1,99	0,28	Neg
5	III	23,3	80,1	77,0	93,4	92,2	1,53	0,39	Neg
6	III	19,7	97,5	99,2	97,4	92,0	1,77	0,18	Neg
7	III	18,6	99,2	96,4	101,1	79,4	1,96	0,17	Neg
8	III	19,1	84,2	105,3	93,3	80,0	1,88	0,19	Pos
9	III	17,3	87,5	98,6	95,2	79,4	1,93	0,16	Pos
10	III	17,8	92,3	94,1	84,7	77,7	2,02	0,17	Pos
11	III	18,4	90,3	88,8	89,0	78,2	1,92	0,19	Pos
12	IV	23,2	99,6	87,3	92,0	86,7	2,05	0,29	Neg
13	IV	16,8	101,3	90,0	97,4	81,2	1,95	0,16	Pos
14	IV	17,4	92,2	100,4	93,3	74,3	1,91	0,19	Pos
15	IV	17,7	97,1	98,9	91,1	72,2	1,61	0,18	Pos
Control Normal		27,5 ± 6,5	98,0 ± 16,0	100,0 ± 24,0	95,0 ± 14,0	91,5 ± 7,5	2,02 ± 0,34	0,35 ± 0,15	

VC: vía clásica; VA: vía alternativa; FB: factor B; FD: factor D; AHAI: anemia hemolítica autoinmune.

## DISCUSIÓN

En la LLC-B se presentan trastornos de inmunorregulación con la pérdida de la tolerancia a antígenos propios que se manifiestan en su asociación con enfermedades autoinmunes, entre las que se destaca la AHAI.<sup>1</sup> Se ha señalado el papel del sistema complemento en el manteni-

miento de la tolerancia inmune, ya que deficiencias de los componentes iniciales de la vía clásica como el Clq, C2, C4 y en menor medida el C3, se han relacionado con el desarrollo de enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico.<sup>5</sup> También es conocida la relación existente entre enfermos con LLC-B y familiares de estos con primer grado de consanguinidad,

con desórdenes autoinmunes, cuya ocurrencia puede verse favorecida por la hipocomplementemia, lo que indica la posible existencia de factores genéticos predisponentes en esta enfermedad.<sup>13,14</sup>

En nuestro trabajo se obtuvieron valores normales de complemento en los pacientes con LLC-B CD5+ en fase poco avanzada de la enfermedad, donde en ningún caso hubo asociación con fenómenos autoinmunes. En cambio, en el grupo de pacientes en fase avanzada, se observaron niveles disminuidos de Clq, C4 y de la actividad de la vía clásica en 10 de los 15 enfermos estudiados, 7 de los cuales tenían asociado una AHAI. Estos datos sugieren la posible participación del sistema complemento en el mantenimiento de la

tolerancia inmunológica, cuya ruptura pudiera provocar la síntesis de anticuerpos antieritrocitarios, y por lo tanto, la anemia hemolítica en determinados enfermos, fenómeno que pudiera estar genéticamente determinado, ya que en 3 pacientes se obtuvieron niveles disminuidos de complemento sin enfermedad autoinmune asociada, hasta el momento del estudio. Trabajos anteriores sugieren al complemento como un posible marcador temprano del desarrollo de autoinmunidad en la LLC.<sup>15</sup>

Estudios futuros referentes a enfermedades malignas asociadas con manifestaciones autoinmunes, nos permitirán profundizar en el posible papel del sistema complemento en el desarrollo y regulación de la respuesta inmune humoral.

## SUMMARY

---

The measurement of the activity of the classical pathway, the alternative pathway, factor B, factor D, as well as the quantification of Clq, C3 and C4 of the complement system were made in 27 patients with type B chronic lymphocytic leukemia (CLL-B) CD5+, classified into 2 groups: 12 patients at little advanced stage of the disease (stages 0, I, II) and 15 patients at advanced stage (stages III, IV). It was proved that the activity of the classical pathway and the concentration of Clq and C4 lowered in 10 patients at advanced stage, 7 of them also had autoimmune hemolytic anemia. Neither complement deficiencies nor autoimmune manifestations were shown in the group of patients at little advanced stage of the disease. Collected data indicates the possible involvement of the complement system in keeping the immune tolerance, the rupture of which may cause the synthesis of anti-erythrocyte antibodies and thus, the hemolytic anemia that occurs in certain patients at advanced stage of the disease.

*Subject headings:* LEUKEMIA, B-CELL, CHRONIC/immunology; AUTOIMMUNE DISEASES; COMPLEMENT/immunology; ANEMIA, HEMOLYTIC, AUTOIMMUNE/immunology.

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Diehl LF, Ketchum LH. Autoimmune disease and chronic lymphocytic leukemia: autoimmune hemolytic anemia, pure red cell aplasia and autoimmune thrombocytopenia. *Semin Oncol* 1998;25 (1):80-97.
2. Youinou P, Pers JO, Jamin C, Lydyard PM. CD5-positive cells at the crossroads of malignancy and nonorgan-specific autoimmunity. *Pathol Biol (Paris)* 2000;48(6):574-6.

3. Efremov DG, Ivanovski M, Burrone OR. The pathologic significance of the immunoglobulins expressed by chronic lymphocytic leukemia B-cells in the development of autoimmune hemolytic anemia. *Leuk Lymphoma* 1998;28(3-4):285-93.
4. Carroll MC, Fischer MB. Complement and the immune response. *Curr Opin Immunol* 1997;9:64-9.
5. Nielsen CH, Fischer EM, Leslie RGQ. The role of complement in the acquired immune response. *Immunology* 2000;100:4-12.
6. Villaescusa R, Borrego I, Merlín JC, Hernández P. Estudio seriado del sistema complemento e inmunocomplejos circulantes en la leucemia linfocítica crónica. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1989;5(1):37-47.
7. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternak BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1975;46(2):219-34.
8. Mayer MM. Complement and complement fixation. En: Kabat EA, Mayer MM (eds). *Experimental Immunochemistry*. Illinois: Thomas Publisher;1967.p.133-40.
9. Platts-Mills TAE, Ishizaka K. Activation of the alternative pathway of human complement by rabbit cells. *J Immunol* 1974;113:348-58.
10. 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;2:63-70.
11. Lesavre PH, Muller-Eberhard HJ. Mechanism of action of factor D of the alternative complement pathway. *J Exp Med* 1978;148:505-9.
12. Mancini G, Carbonara AD, Heremans JF. Single radial diffusion method for the immunological quantification of proteins. Peeters H (ed). *Int Prot Biol Fluids*. 11<sup>th</sup> Colloqu Bruges. Oxford: Pergamon;1964;p.370-3.
13. Villaescusa R, Guerreiro AM, Merlín JC, Arce AA, García M, Hernández P. Hipocomplementemia familiar en la leucemia linfocítica crónica. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1998;14(2):101-6.
14. Yuille MR, Matutes E, Morosy A, Hildilth B, Catovsky D, Houlston RS. Familial chronic lymphocytic leukemia a survey and review of published studies. *Br J Haematol* 2000;109(4):794-9.
15. Lugassy G, Schlesinger M. The complement system in chronic lymphocytic leukemia: a possible role in autoimmune manifestations. *Leuk Lymphoma* 1996;21(5-6):501-3.

Recibido: 20 de diciembre del 2001. Aprobado: 18 de enero del 2002.

Lic. *Rinaldo Villaescusa Blanco*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf. (537) 578268, 544214. Fax(537)442334. e-mail:ihidir@hemato.sld.cu