

Estudio seriado de anticuerpos naturales antibanda 3 en enfermos con drepanocitosis

Natural band 3 antibodies follow up study in sickle cell anemia patients

Lic. Ada Amalia Arce Hernández, DrC. Rinaldo Villaescusa Blanco, Lic. Julio César Merlín Linares, Lic. Ana María Guerreiro Hernández, Lic. Aymara Leyva Rodríguez, Dra. Rosa María Lam Díaz, Dr. Carlos Hernández Padrón

Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: Se ha demostrado la participación de moléculas de adhesión, tanto en eritrocitos con hemoglobina SS, como en el endotelio vascular; así como factores plasmáticos en el fenómeno de vasoclusión en la drepanocitosis. La banda 3 se refiere a una familia de intercambiadores aniónicos presentes en la membrana de todas las células y organelos celulares, las que bajo ciertas condiciones se agregan en la superficie del eritrocito y son reconocidos por anticuerpos naturales como parte del mecanismo de eliminación de eritrocitos senescentes u oxidados.

Objetivo: Evaluar la posible participación de los anticuerpos naturales antibanda 3 en el fenómeno oclusivo en la drepanocitosis.

Métodos: Se realizó la determinación seriada de anticuerpos naturales antibanda 3 en 19 enfermos con drepanocitosis en diferentes estadios clínicos mediante un ensayo inmunoenzimático en microplacas acopladas con la proteína banda 3.

Resultados: Se demostró una disminución significativa ($p < 0.01$) de anticuerpos naturales antibanda 3 en las muestras de los enfermos obtenidas en las fases de crisis vasoclusiva dolorosa, disminución que pudiera estar relacionada con un consumo elevado de estos en el proceso de eliminación de eritrocitos SS oxidados de la circulación sanguínea. Las muestras en estado basal se mantuvieron dentro de los límites normales.

Conclusión: Los resultados sugieren la participación de los anticuerpos naturales

antibanda 3 como elemento regulador de la no adhesión de los eritrocitos SS al endotelio vascular en esta enfermedad.

Palabras clave: drepanocitosis, crisis vasoclusiva dolorosa, estado basal, banda 3, anticuerpos naturales antibanda 3.

ABSTRACT

Introduction : The involvement of adhesion molecules in erythrocytes with hemoglobin SS, in vascular endothelium and also plasma factors have been shown in the vasoocclusion phenomenon in sickle cell anemia (SCA). Band 3 refers to a family of anion exchangers present in the membrane of all cells and cellular organelles which under certain conditions cluster on the erythrocyte surface being recognized by natural antibodies as part of the mechanism of removal of senescent or oxidized erythrocytes.

Objective : To evaluate the possible participation of natural anti band 3 antibodies in the occlusive phenomenon in SCA.

Methods : A follow up study to determine the presence of natural band 3 antibodies in 19 patients with SCA in different clinical stages was performed using an enzyme immunoassay in microplates coupled with the band 3 protein.

Results : Significant low levels ($p < 0.01$) of natural band 3 antibodies were demonstrated in the samples of patients obtained in painful vasoocclusive crisis stages, decrease which may be related to a high consumption of antibodies in the process of removing oxidized SS erythrocytes from blood circulation. Steady state samples were within normal range.

Conclusion: The results suggest the involvement of natural band 3 antibodies in the regulation of the adherence of SS erythrocytes to vascular endothelium in SCA.

Keywords : sickle cell disease, painful vasoocclusive crisis, steady state, natural band 3 antibodies, band 3.

INTRODUCCIÓN

La vasoclusión en la drepanocitosis se considera una característica única entre las anemias hemolíticas ¹. Diversas investigaciones han permitido acumular información acerca de las moléculas de adhesión, tanto en eritrocitos con hemoglobina SS, como en el endotelio vascular, así como factores plasmáticos que participan en la vasoclusión ²⁻⁶. En la actualidad se trabaja para establecer la posible participación de la proteína banda 3 eritrocitaria y los anticuerpos naturales antibanda 3 en el fenómeno de oclusión.

La banda 3 se refiere a una familia de intercambiadores aniónicos (AE 0-3) presentes en la membrana de todas las células y organelos celulares ⁷. Bajo ciertas condiciones, la proteína banda 3 de la membrana eritrocitaria (AE 1) se agrega en la superficie del eritrocito que son reconocidos por anticuerpos naturales como parte del mecanismo de eliminación de eritrocitos senescentes u oxidados ⁸.

El objetivo de este trabajo fue la determinación seriada de anticuerpos naturales antibanda 3, mediante un ensayo inmunoenzimático en un grupo de enfermos con drepanocitosis en diferentes fases clínicas, para establecer su posible participación en el fenómeno de vasoclusión en esta enfermedad.

MÉTODOS

Se estudiaron 19 pacientes con el diagnóstico de drepanocitosis provenientes del Servicio de Adultos del Instituto de Hematología e Inmunología, 12 hombres y 7 mujeres con un promedio de edad de 31 años (rango: 20 - 42 años). De las 62 muestras de suero obtenidas en el grupo de pacientes estudiados, 32 correspondieron a condiciones basales y 30 a crisis vasoclusivas dolorosas (CVOD). La sangre se obtuvo por punción venosa y se conservó el suero a -70°C . Los sueros controles se obtuvieron y se conservaron en las mismas condiciones.

Se determinaron los niveles de anticuerpos naturales antibanda 3 mediante un ensayo inmunoenzimático empleando la proteína banda 3 purificada acoplada a placas Chemobond[®]. En el análisis estadístico se empleó la t Student para muestras pareadas para comparar los resultados en CVOD con los obtenidos en condiciones basales y controles sanos.

RESULTADOS

Se demostró una disminución estadísticamente significativa ($p < 0.01$) en los niveles de anticuerpos naturales antibanda 3 en las muestras de enfermos en CVOD, las muestras obtenidas en estado basal se encontraban dentro de los límites normales (Tabla).

Tabla. Estudio seriado de anticuerpos naturales anti banda 3 en el suero de enfermos con drepanocitosis en diferentes fases clínicas

| Enfermos (n = 19) | FASE CLÍNICA | | | | | Controles sanos (n = 30) |
|--|--------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|--------------------------------|
| | BASAL | CVOD | BASAL | CVOD | BASAL | |
| Media \pm DS ($\mu\text{g}/\text{mL} \times 10^{-2}$) | 8.74 \pm 0.15 | 6.94 \pm 0.90(*) | 8.60 \pm 0.26 | 6.64 \pm 0.77(*) | 8.56 \pm 0.17 | 9.64 \pm 2.11 |

(*) Diferencia significativa ($p < 0.01$) al comparar con los resultados en fase clínica basal y controles sanos.

CVOD – crisis vasoclusiva dolorosa.

DISCUSIÓN

En hemoglobinopatías tales como la drepanocitosis, b - talasemia y deficiencias de G6PD, existe un aumento de agregados de la proteína banda 3 eritrocitaria, al

compararlos con eritrocitos controles, como resultado de la oxidación y desnaturalización posterior de la hemoglobina ¹⁰. Este fenómeno se describió por primera vez en eritrocitos normales senescentes como parte del mecanismo fisiológico de eliminación de estas células de la circulación sanguínea ⁸. La agregación de la molécula banda 3 genera un oligómero que es reconocido por anticuerpos naturales de la clase IgG, lo que contrasta con la mayoría de los anticuerpos de este tipo que son comúnmente de la clase IgM. Estas células a las que se une el anticuerpo, reaccionan con un componente del complemento C3b que acentúa su habilidad de ser reconocidas por el sistema fagocítico-mononuclear y son eliminadas por los macrófagos del bazo ¹¹.

En el presente estudio seriado se obtuvo una disminución estadísticamente significativa ($p < 0.01$) de anticuerpos naturales anti banda 3 en las muestras de suero en CVOD, no así en estado basal que se mantuvieron dentro de límites normales. Este resultado pudiera estar relacionado con un consumo aumentado de estos en el mecanismo de eliminación de eritrocitos SS oxidados de la circulación sanguínea. Recientemente se demostró una disminución significativa en un grupo de pacientes en CVOD al compararlos con enfermos en estado basal y el grupo control ¹².

Los resultados sugieren la participación de los anticuerpos naturales antibanda 3 en el fenómeno oclusivo, la unión de estos a los oligómeros de banda 3 en la membrana de los eritrocitos SS oxidados pudiera representar un mecanismo favorecedor de la no adhesión de los eritrocitos al endotelio y por tanto en la solución de la vasoclusión. Resulta importante continuar profundizando en estos aspectos lo que redundaría en un mejor conocimiento del complejo mecanismo vasoclusivo en la drepanocitosis y en el posible desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rees DC, Gibson JS Biomarkers in Sickle cell disease. Br J Haematol. 2012; 156: 433-45
2. Steinberg MH. In the clinic. Sickle cell disease. Ann Intern Med. 2011; 155(5): 1-15.
3. Gutsaeva DR, Parkerson JB, Yerigenahally SD. Inhibition of cell adhesion by anti-P-selectin aptamer: a new potential therapeutic agent for sickle cell disease. Blood. 2011; 117(2): 727-735.
4. Manwami D, Frenette PS. Vaso-occlusion in sickle cell disease: pathophysiology and novel targeted therapies. ASH Education Book. 2013; 1: 362-9. Doi: 10.1182/asheducation-2013.1.362
5. Kutlar A, Ataga KI, McMahon L. A potent oral P-selectin blocking agent improves microcirculatory blood flow and a marker of endothelial cell injury in patients with sickle cell disease. Am J Hematol. 2012; 87(5): 536-539.
6. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. Lancet. 2010; 376: 2018-31
7. Arce AA, Villaescusa R. Organización de la membrana celular: banda 3, estructura y function. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2005 [citado 2015 Abr 23]; 21(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892005000300001&lng=es .

8. Arese P, Turrini F, Schwarzer E. Band 3/complement-mediated recognition and removal of normally senescent and pathological human erythrocytes. *Cellular Physiol Biochem*. 2005;16(4):133-46.
9. Arce AA, Villaescusa R, Merlín JC. Ensayo inmunoenzimático para la determinación de anticuerpos naturales anti banda 3. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2008 Dic [citado 2015 Abr 23] ;24(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892008000300006&lng=es .
10. Kaul DK, Finnegan E, Barabino GA. Sickle red cell-endothelium interactions. *Microcirculation*. 2009;16(1):97-111.
11. Kaul DK. Insights into vascular pathobiology of sickle cell disease. *Hematology* 2009;15:446-57.
12. Villaescusa R, Arce AA, Lalanne-Mistrih ML, Lamarre Y, Hierso R, Hernández C, Hardy-Dessources MD, CAREST study group. Natural anti band 3 antibodies in patients with sickle cell disease. *CR Biologies*. 2013;336:173-6.

Recibido: noviembre 03, 2015.

Aceptado: abril 18, 2016.

Lic. Ada A. Arce Hernández . Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, La Habana, CP 10800, CUBA. Tel (537) 643 8695, 8268. E mail: rchematologia@infomed.sld.cu