



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Fundamentos fisiopatológicos para el diagnóstico de la anemia hemolítica autoinmune

Pathophysiological basics for the diagnosis of autoimmune hemolytic anemia

Jorge Luis Hernández González^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-9636-7231>

Adalberto Fortún Prieto² <https://orcid.org/0000-0001-5091-4626>

Mirta Caridad Campo Díaz¹ <https://orcid.org/0000-0002-2136-5709>

¹Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. Hospital Pediátrico Provincial Docente Pepe Portilla. Pinar del Río, Cuba.

²Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. Hospital Clínico Quirúrgico Docente Dr. León Cuervo Rubio. Pinar del Río, Cuba.

*Autor para la correspondencia: jorgelhg@infomed.sld.cu

Recibido: 5 de febrero 2019

Aceptado: 12 de julio 2019

Publicado: 1 de septiembre 2019

Citar como: Hernández González JL, Fortún Prieto A, Campo Díaz MC. Fundamentos fisiopatológicos para el diagnóstico de la anemia hemolítica autoinmune. Rev Ciencias Médicas [Internet]. 2019 [citado: fecha de acceso]; 23(5): 745-757. Disponible en: <http://revcmpinar.sld.cu/index.php/publicaciones/article/view/3904>

RESUMEN

Introducción: la anemia hemolítica autoinmune es producida por anticuerpos que reaccionan con los eritrocitos propios del paciente, demostrables a través de la positividad del test de antiglobulina o prueba de Coombs directa. La clasificación de la enfermedad se basa en dos parámetros fundamentales: su etiología y las características térmicas del funcionamiento de los autoanticuerpos.

Objetivo: actualizar la información científica sobre las causas y la fisiopatología de la anemia hemolítica autoinmune.

Métodos: se realizó una revisión de los principales libros de texto y los artículos más recientes publicados en las principales revistas hematológicas e inmunológicas, para lograr una guía práctica del diagnóstico de la enfermedad.

Discusión: debido a que existe una amplia gama de protocolos para su diagnóstico basados en parámetros no siempre coincidentes, se expone una metodología para el trabajo de los médicos que atienden enfermos con diferentes tipos de anemia hemolítica autoinmune, sobre la base de los conocimientos acerca de las causas y la fisiopatología de la enfermedad.



Conclusiones: la comprensión de la fisiopatología y los criterios de clasificación de la anemia hemolítica autoinmune es un requisito para el diagnóstico de este trastorno, y la utilización de las nuevas opciones terapéuticas en el manejo de estos enfermos.

DeCS: ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE/fisiopatología; CLASIFICACIÓN; DIAGNÓSTICO; AUTOANTICUERPOS; AUTOANTÍGENOS.

ABSTRACT

Introduction: autoimmune hemolytic anemia is produced by antibodies that react with the patient's own erythrocytes provable through the positivity of the antiglobulin test or direct Coombs test. The classification of the disease is based on two fundamental parameters: its etiology and the thermal characteristics of the functioning of the auto antibodies accounts.

Objective: to update scientific information on the causes and pathophysiological autoimmune hemolytic anemia.

Methods: a review of the main textbooks and the most recent articles published in the main hematological and immunological journals was carried out, bringing together the knowledge to achieve a practical guide to the diagnosis of this disease.

Discussion: due to the fact that there is a wide range of protocols for its diagnosis, based on parameters that do not always coincide, a methodology is presented for the work of physicians who treat patients with different types of autoimmune hemolytic anemia based on knowledge about the causes and the pathophysiological characteristics of this disease.

Conclusions: understanding the physiopathology and classification criteria of autoimmune hemolytic anemia is a requirement for the diagnosis of this disorder and the use of new therapeutic options in the management of these patients.

MeSH: ANEMIA, HERMOLYTIC AUTOIMMUNE/physiopathology; CLASSIFICATION; DIAGNOSIS; AUTOANTIBODIES; AUTOANTIGENS.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la fisiopatología de la anemia hemolítica autoinmune (AHA), es un requisito para la comprensión de la enfermedad, en particular su clasificación, la que se basa en dos parámetros fundamentales: su etiología y las características térmicas del funcionamiento de los autoanticuerpos. La actualización de los conceptos, sus causas y la fisiopatología de este tipo de anemia por parte de los médicos, es un requisito para la elevación de la calidad en el trabajo diagnóstico de este trastorno, así como para la utilización de las nuevas opciones terapéuticas en su manejo.

Los estados de autoinmunidad pueden ser inducidos por diversos factores, entre los que se señalan la naturaleza propia de los autoantígenos, la regulación genética y un grupo de factores ambientales,^(1,2) sin embargo, el mecanismo de iniciación del trastorno no está definido en su totalidad. La supresión de la regulación inmunológica por los linfocitos T incluye la presencia de células CD4⁺ que co-expresan CD25, no obstante, algunas células CD4⁺ que no expresan CD25 pueden también inducir tolerancia mediante dicha supresión. Estas células T pueden suprimir o inhibir la activación de los linfocitos y sus funciones efectoras bajo la acción de citoquinas como la interleuquina 10 y el factor de crecimiento en transformación β .⁽³⁾

La AHA es una enfermedad en la que solo una limitada proporción de pacientes alcanzan una remisión espontánea o inducida por el tratamiento, por lo que es bajo su índice de mortalidad.

En niños existen algunas evidencias que indican una tendencia familiar, pero no está identificado ningún marcador genético hereditario. La forma primaria es más prevalente en mujeres y niños, mientras que, en la secundaria, la relación mujer/hombre es muy elevada en los pacientes con lupus eritematoso sistémico, pero baja en aquellos con leucemia linfocítica crónica.

Su incidencia anual es de 1-3 casos/100 000 habitantes y aproximadamente 0,2 casos/1, 000 000 en los menores de 20 años de edad, aunque es probable que estos datos subestiman su incidencia debido, en parte, a las dificultades en la comprensión de los estudios diagnósticos; por lo que la no disponibilidad de un protocolo definido para el mismo, origina demoras innecesarias e inexactitudes en la definición del sub-tipo de la enfermedad y su causa.⁽⁴⁾

La incidencia de enfermedad crónica por aglutininas de frío se estima en 1/1 000 000/año con un predominio en el sexo femenino, muestra una mayor prevalencia en climas nórdicos.⁽⁵⁾ Puede aparecer no solo en individuos inmunocompetentes, sino también en aquellos con trastornos adquiridos de las células T, como VIH o tratamiento inmunosupresor.

La hemólisis comienza cuando se produce la unión del autoanticuerpo a la membrana de los eritrocitos e interactúa con el complemento. La destrucción eritrocitaria puede ocurrir de forma directa en la circulación (hemólisis intravascular) o mediante la remoción de las células por los macrófagos en el bazo, el hígado o ambos (hemólisis extravascular). Diversas clases de inmunoglobulinas pueden fijar el complemento (IgG, IgA e IgM) y una vez producida su unión a la superficie eritrocitaria, los macrófagos reconocen las células "marcadas" a través de los receptores específicos para el fragmento Fc de las IgG y C3d.

Los eritrocitos cubiertos solo de IgG o complemento, serán destruidos en el bazo y el hígado, mientras que aquellos cubiertos de IgM lo serán en el hígado. La AHA es una enfermedad en que los anticuerpos que destruyen células propias están dirigidos contra marcadores de los eritrocitos propios (autoantígenos), al ser la alteración en el mecanismo de regulación por los linfocitos T a través de sus epítopes del sistema RhD, uno de los factores principales en el desarrollo de la enfermedad.⁽⁶⁾

Es probable que la AHA se deba en gran parte, a la acción de anticuerpos auto-reactivos contra la proteína banda 3, un transportador aniónico encontrado en la membrana eritrocitaria involucrado en la senescencia de dichas células sanguíneas. La forma secundaria es el tipo más frecuente observado, constituye el 53 % de todos los casos diagnosticados, puede ser parte de una enfermedad de mayor complejidad, que puede ser inmunológica, de tipo infeccioso o neoplásica.⁽⁷⁾ Una de las causas más frecuentes en este grupo son los linfomas y leucemia linfocítica crónica (que son más de la mitad de los casos de AHA secundaria) y el lupus eritematoso sistémico.^(8,9)

Los anticuerpos inducidos por drogas pueden ser identificados con las técnicas comunes como el test de antiglobulina directa (TAD) o indirecto (TAI). Los fármacos que producen hemólisis autoinmune pueden clasificarse sobre la base del mecanismo efector de destrucción eritrocitaria, pues se desconoce el proceso de formación de anticuerpos relacionados con la droga.

En el mecanismo de *adsorción o hapteno* (penicilina a altas dosis) el organismo produce anticuerpos IgG anti-penicilina que se unen a la droga adherida a la superficie eritrocitaria, lo que provoca daño a su membrana y hemólisis en el trayecto esplénico. Aunque la mayor parte de los pacientes que reciben penicilina desarrollan anticuerpos IgM, ello no siempre tiene relevancia en la destrucción inmune de los glóbulos rojos. No obstante, todos los enfermos

que reciben dosis elevadas de penicilina muestran adsorción de la droga en la superficie de los eritrocitos, aunque ello no es suficiente para el desarrollo de hemólisis.

Solo cuando la dosis del antibiótico es muy elevada, un método terapéutico poco utilizado en la práctica médica, se producen anticuerpos IgG que al unirse a la penicilina sobre la membrana eritrocitaria inducen la destrucción celular sin que se produzcan otras manifestaciones de hipersensibilidad a la penicilina. Se evidencia la anemia hemolítica después de 7-10 días de tratamiento y desaparece en pocos días hasta dos semanas después de suspender la droga. Otros fármacos en los que se ha descrito este mecanismo son las cefalosporinas, tetraciclina, 6-mercaptopurina, hidrocortisona y cimetidina.

El mecanismo *complejo terciario* o interacción anticuerpo/droga/célula-diana, involucra no solo a los eritrocitos, sino también plaquetas o incluso granulocitos, y tiene varias diferencias con el mecanismo *hapteno*. La primera es la pobre capacidad de las drogas para unirse a la membrana celular, sin embargo, una escasa cantidad de la misma puede provocar su destrucción mediante la activación del complemento.

Es el mecanismo denominado *espectador inocente*, ya que una vez formado el complejo anticuerpo-droga, este se une a la superficie celular con una posterior activación del complemento dependiente del mismo. La destrucción eritrocitaria después de completar la secuencia de activación del complemento produce hemólisis intravascular con la correspondiente hemoglobinemia y hemoglobinuria, no obstante, la destrucción de eritrocitos cubiertos por C3b puede tener lugar por secuestro en el bazo o el hígado a través de los receptores de los macrófagos. Este tipo de hemólisis inmune ha sido descrito en drogas como quinidina, metformín, rifampicina, cefalosporinas, anfotericin B y diclofenac, entre otras.⁽¹⁰⁾

Entre las causas de AHA por fármacos se conoce desde hace mucho la asociada a metildopa, que expresa una especificidad serológica e inmunoquímica similar a la de pacientes con AHA primaria.^(11,12) Este es el mecanismo denominado *autoanticuerpo*. La AHA asociada a la ingestión de metildopa es inusual (<1%) y su aparición no depende de la dosis utilizada. Es habitual que el TAD sea positivo para IgG, e incluso, en algunos casos también al complemento.

Los autoanticuerpos presentes en este tipo de anemia hemolítica son reactivos a determinantes del complejo Rh, por lo que la distinción entre anticuerpos inducidos por la droga, y los presentes en la AHA idiopática, solo es posible basado en el antecedente de ingestión del fármaco. Aunque no está definido el mecanismo a través del cual estos fármacos inducen la producción de autoanticuerpos contra determinantes propios, se han evaluado al menos dos hipótesis: 1) alguno de los determinantes antigénicos de la droga es común con los del huésped, o 2) la misma interactúa con los linfocitos T humanos e induce la pérdida de la función supresora de estas células. Este mecanismo ha sido encontrado también con el uso de levodopa, cefalosporinas, oxaliplatino, procainamida, diclofenac, y otras.

Existe otro tipo de anemia hemolítica *no inmunológica* que puede observarse en alrededor del 5 % de los pacientes que reciben cefalosporinas. La importancia del mismo es que el TAG puede ser positivo debido a la adsorción inespecífica de proteínas plasmáticas (inmunoglobulinas, complemento, albúmina, fibrinógeno) en la superficie de los eritrocitos. Si bien su mecanismo de producción no está definido en su totalidad, la relevancia consiste en que la droga puede inducir daño inmunológico a través del mecanismo hapteno, terciario o autoanticuerpo. También ha sido descrito en otros fármacos como oxaliplatino y cisplatino.⁽⁸⁾ La AHA primaria es aquella en la que no puede definirse una condición o enfermedad subyacente (37 %), y el 10 % restante son pacientes que la padecen en el curso o posterior a una enfermedad infecciosa. Entre las infecciones que con mayor frecuencia se asocian a

hemólisis autoinmune se destacan aquellas producidas por *Mycoplasma Pneumoniae*, la mononucleosis infecciosa, la sífilis y las infecciones virales por citomegalovirus o VIH, aunque en esta última es más frecuente la trombocitopenia inmune.

Es importante tener en cuenta que en los tipos secundarios de AHA, la asociación temporal entre el proceso hemolítico y la enfermedad subyacente es variable. En afecciones malignas, en muchos casos antecede a su diagnóstico (pueden ser años en los linfomas no Hodgkin); no obstante, la mayoría de las veces ocurre de forma simultánea, aunque en otros casos hace su aparición solo después de la recurrencia de la enfermedad o posterior al logro de una remisión terapéutica exitosa, lo que es considerado una rareza. La AHA asociada a leucemia linfocítica crónica usualmente ocurre en su fase tardía, en los pacientes con lupus eritematoso sistémico, es una complicación de etapas tempranas y en las enfermedades infecciosas aparece poco después del inicio de los síntomas, excepto la infección por VIH, en que la anemia hemolítica es una complicación de las etapas avanzadas de la enfermedad.⁽⁵⁾

Otras causas secundarias de AHA son, para aquellas por anticuerpos fríos, el síndrome de Sjögren, dermatomiositis, cirrosis biliar, enfermedad de Graves, polimialgia reumática y esclerodermia. En estos casos, es usual que el autoanticuerpo sea una IgM monoclonal que posee dos sitios de unión para C1q y fija con facilidad el complemento. Estos autoanticuerpos se unen a los hematíes a bajas temperaturas y causan hemólisis por debajo de 22°C. En estos enfermos el TAD típicamente es positivo solo para C3d. Cuando están presentes en altos títulos, los autoanticuerpos pueden activar el complemento de forma directa y producir lesión de membrana con hemólisis intravascular y hemoglobinuria.⁽¹³⁾

Entre el 70 y 80 % de pacientes presentan AHA por anticuerpos calientes, los cuales son predominantemente IgG policlonal (IgG_{1,2,3,4}), se unen a los glóbulos rojos a temperatura de 37°C y se cuantifican en muy pequeñas cantidades libres en el suero. En estos pacientes los eritrocitos que solo son fagocitados de forma parcial, por macrófagos se transforman en esferocitos, los que serán removidos en los cordones esplénicos a causa de su rígida estructura.⁽⁴⁾

Por todo lo expuesto con anterioridad, el objetivo de esta investigación es contribuir a la actualización de los conocimientos de los profesionales médicos sobre las causas y fisiopatología de esta enfermedad; un requisito tanto para el trabajo diagnóstico como para la utilización de las nuevas opciones terapéuticas en el manejo de estos enfermos.

MÉTODOS

Se realizó la revisión de los artículos científicos e investigaciones publicados en las revistas más importantes sobre hematología e inmunología, se tomaron en cuenta los principales libros de texto de ambas disciplinas, para la búsqueda de los conceptos recientes acerca de la fisiopatología y clasificación de la AHA, así como las implicaciones que dichos conocimientos aportan a la orientación diagnóstica de la enfermedad.

Se propone una organización práctica de estos aspectos para facilitar un pensamiento científico que pueda ser utilizado por todos los profesionales médicos interesados en el trabajo diagnóstico y la atención de los pacientes afectados.

DESARROLLO

Diagnóstico de anemia hemolítica autoinmune

Las aglutininas de frío (un término introducido en 1953), fueron descritas en 1903, por Landsteiner. No obstante, el reconocimiento de la conexión entre ellas con la anemia



hemolítica y el fenómeno de Raynaud, evolucionó de forma muy lenta hasta que se hizo evidente que algunos pacientes con anemia hemolítica mostraban aglutinación de eritrocitos humanos autólogos en soluciones salinas, se comprobó más tarde que estos factores del suero eran anticuerpos específicos (con un predominio del tipo IgM) y en una pequeña proporción de los casos, la lisis de los eritrocitos se producía en presencia de suero fresco como fuente del complemento. No fue hasta 1945, que Coombs y colaboradores mostraron que los eritrocitos cubiertos de anticuerpos no aglutinantes (isotipo IgG) pueden ser aglutinados por antisuero murino contra γ globulina humana, lo que fue denominado "prueba de Coombs directa (test de antiglobulina directa [TAD])" y más tarde, quedó evidenciado que estas reacciones en la AHA son atribuibles a la unión de inmunoglobulinas (con preeminencia de IgG) y/o proteínas del complemento a la superficie de los hematíes). El primer reporte de destrucción eritrocitaria relacionada con drogas se realizó en 1947.⁽¹⁴⁾

La AHA es en esencia un diagnóstico de laboratorio que con frecuencia es difícil, por lo que conocer la experiencia de los centros de referencia y tener acceso a los protocolos para su definición, juega un importante papel.

Existen cuatro momentos claves que son insoslayables para establecer el diagnóstico de AHA: El primer paso es determinar si se trata de una anemia hemolítica. Esta se define mediante la presencia de anemia normocítica o macrocítica, conteo absoluto de reticulocitos elevado (>100 000 a 120 000/ μ L), disminución de la haptoglobina y elevación la deshidrogenasa láctica y la bilirrubina indirecta en el suero. La haptoglobina es una α 2-globulina que se une a la hemoglobina y forma un complejo que es degradado en el hígado, junto a la hemopexina "limpian" el hem liberado de los eritrocitos después de la hemólisis, por lo que protege el organismo de los efectos adversos de la hemoglobina circulante, en particular la formación de radicales libres y la formación de micropartículas.^(15,16)

La detección de hemopexina no es esencial para el diagnóstico de AHA. Otros hallazgos encontrados pueden ser el aumento del urobilinógeno en la orina y la presencia de esferocitos en la sangre periférica. Puede encontrarse leucoeritroblastosis cuando existe un cuadro hiperagudo, pero en esta situación debe sospecharse anemia hemolítica microangiopática. El estudio de la médula ósea no es necesario a menos que se sospeche AHA secundaria a linfoma. El segundo momento del diagnóstico es definir si la hemólisis es de tipo autoinmune mediante la realización del TAD. Este test se realiza mediante la incubación de glóbulos del paciente con anticuerpo poliespecífico para IgG y C3d, resulta positivo si se produce aglutinación de los eritrocitos. El test de antiglobulina indirecto (TAI) se realiza después de obtener resultado negativo con el anterior y no resulta necesario a menos que sospeche AHA inducida por drogas. La diferenciación entre anticuerpos droga-dependientes y autoanticuerpos depende de su positividad después añadir hematíes del paciente eluados con ácido, lo que demuestra la presencia de estos últimos. La severidad del comportamiento clínico de la enfermedad no se correlaciona con la intensidad del resultado del TAD, sino de la subclase de inmunoglobulina que forma el anticuerpo (ej: IgG1 o Ig3).

El resultado del TAD no es un marcador de la remisión de la enfermedad, ya que pacientes sin evidencias de la misma pueden ofrecer resultados positivos. Si el TAD convencional ofrece resultado negativo no debe excluirse el diagnóstico, ya que entre el 2 y el 11 % de los pacientes con AHA lo son. Cuando los hallazgos clínicos sugieren la enfermedad, es necesario realizar estudios cuantitativos más sensibles para determinar la cantidad de moléculas de inmunoglobulinas adheridas a los glóbulos rojos.

Luego se impone clasificar los anticuerpos según sus características térmicas en calientes o fríos. Si el TAD mono-específico es positivo para IgG aislada o IgG + C3d, la anemia hemolítica puede ser causada por anticuerpos calientes. Si es positivo solo para C3d cobra valor la

existencia de AHA causada por anticuerpos fríos. Cuando se sospecha AHA por anticuerpos fríos debe tenerse en cuenta que la sangre que se envía al laboratorio haya sido obtenida a 37°C. Si los eritrocitos estudiados solo expresan C3d, podría tratarse de una AHA por anticuerpos calientes si la cantidad de IgG unida a su superficie es muy reducida, lo cual constituye una situación rara. A los pacientes con positividad para C3d se les debe determinar el título de aglutininas de frío, y si es mayor de 1:512, entonces el diagnóstico de AHA por autoanticuerpos fríos queda establecido. La AHA mixta es rara y su diagnóstico se basa en la positividad de TAD IgG asociado a resultado positivo en el eluato, TAD positivo para C3d y la evidencia de una anemia hemolítica con amplitud térmica superior a 30°C.

El diagnóstico queda establecido cuando se define si se trata de un proceso primario o en el curso de otra enfermedad (secundario). Los procedimientos a utilizar incluyen una cuidadosa anamnesis y examen físico, estudios de laboratorio e imagen. En el paciente pediátrico con AHA por anticuerpos calientes, la prioridad debe ser la búsqueda de alguna infección. Debe obtenerse información sobre medicación reciente, así como la historia de síntomas generales o artritis. La presencia de linfadenopatías o esplenomegalia no es parte del cuadro clínico de la AHA primaria por anticuerpos calientes. Los estudios de laboratorio deben incluir reactivos de fase aguda, LDH, determinación cuantitativa de inmunoglobulinas y otros tests dependientes de la evaluación clínica del paciente.

No es obligatorio realizar examen de la médula ósea a menos que se sospeche la presencia de linfoma. La realización de ultrasonografía es razonable para precisar el tamaño del bazo, la posibilidad (remota) de teratoma ovárico, o linfadenopatías abdominales. El tiempo parcial de tromboplastina anormal podría sugerir la necesidad de determinar la presencia de anticoagulante lúpico, para evaluar la posibilidad de lupus eritematoso sistémico.⁽⁵⁾

Para la AHA por autoanticuerpos fríos, la historia de enfermedad febril indica la necesidad de radiografía de tórax, cuyo resultado positivo sugiere la realización de test para *Mycoplasma Pneumoniae*. Además de la enfermedad clásica por aglutininas de frío, estas pueden aparecer en otros tipos de cáncer, linfomas agresivos o infecciones. Otros estudios incluyen glucemia, hemoglobina glucosilada, test de función hepática y renal, VIH, antígeno de hepatitis B y la exclusión de una tuberculosis latente, todos ellos por la necesidad de evitar complicaciones del tratamiento esteroideo.

Test de antiglobulina directo:

El diagnóstico de laboratorio de la enfermedad depende de la identificación de autoanticuerpos adheridos a eritrocitos autólogos (TAD o Coombs directo) o libres en el suero (test de antiglobulina indirecto [TAI] o Coombs indirecto). El TAD pone en evidencia la presencia de IgG y C3d en la superficie de los glóbulos rojos. Cuando sea posible deben utilizarse los tests con anticuerpos monoespecíficos anti-IgG y anti-C3d.⁽¹⁷⁾ El TAI es positivo en el 34 % de los pacientes con AHA cuando hay autoanticuerpos detectables, y en otras condiciones como aloinmunización (transfusión previa, embarazo, etc.). En caso de negatividad es apropiado repetirlo y, si se mantiene debe considerarse la existencia de AHA inducida por drogas.⁽¹⁸⁾

Un aspecto no comprendido en su totalidad es la ausencia de una relación clara entre la intensidad de la anemia y la presencia de anticuerpos anti-eritrocitarios. En muchos casos no existe anemia a pesar de una fuerte positividad del TAD o altos títulos de anticuerpos fríos. La correlación entre los tipos de anticuerpos y la severidad de la anemia también es limitada.

Es típico que los anticuerpos fríos tengan escasa, si alguna, actividad a temperatura corporal, pero poseen una gran afinidad por los eritrocitos si la temperatura tiende a disminuir hacia 0°C. Por su parte, los anticuerpos calientes tienen su mayor afinidad a 37°C. De forma general, los anticuerpos fríos son IgM, fijan complemento y producen destrucción intravascular

inmediata de los hematíes o de forma indirecta, mediante la degradación de fragmentos de C3 por receptores específicos de las células reticuloendoteliales, sobre todo los macrófagos hepáticos (células de Kupffer).⁽⁶⁾

En contraste, es típico que los anticuerpos calientes sean IgG, inmunoglobulina que es iniciador inefectivo de la activación de la vía clásica del complemento y produce pérdida de glóbulos rojos a través de su aclaramiento esplénico.⁽¹⁹⁾ Los pacientes que expresan ambos tipos de anticuerpo (AHA mixta) expresan un comportamiento clínico turbulento a causa de la severa destrucción eritrocitaria, y su pobre respuesta al tratamiento es característico.

El TAD (presencia de IgG o C3d en la superficie de los eritrocitos) puede ser positivo, tanto en la AHA por anticuerpos calientes (con predominio de IgG con hemólisis esplénica) como por anticuerpos fríos (sobre todo IgM con hemólisis dependiente de la activación del complemento).^(20,21)

Cuando existe AHA con hemólisis intravascular “verificada o sospechada”, no obstante, del resultado del TAD, es recomendable realizar test para autoanticuerpos Donath-Landsteiner. Este autoanticuerpo IgG, como se conoce, es una hemolisina bifásica que cliva el complemento a bajas temperaturas y puede ser causa de hemólisis a 37°C.

En algunas ocasiones los pacientes con AHA son negativos para el TAD. La frecuencia reportada de AHA TAD-negativa es alrededor del 10 %. Deben entonces, excluirse otras causas no inmunes de hemólisis como las mecánicas (válvulas cardíacas protésicas, hemoglobinuria de las marchas), anemia causada por daño vascular (anemia hemolítica microangiopática, púrpura trombocitopénica trombótica, síndrome urémico hemolítico o coagulación intravascular diseminada) o anemia hemolítica asociada a infecciones.^(22,23) De no existir, es necesario realizar estudios adicionales con suero específico.

Si el TAD continúa negativo deben ser utilizados métodos aún más sensibles para identificar pequeñas cantidades de IgG adherida a los hematíes, como la citometría de flujo, métodos inmunoenzimáticos e inmunoradiométricos.⁽¹⁷⁾

Clasificación de la AHA:

La AHA puede ser clasificada sobre la base, tanto de las propiedades térmicas de los anticuerpos involucrados, como del tipo de inmunoglobulina.

Se presentan a continuación las principales características de las diversas formas de la enfermedad, se incluye el sitio de hemólisis en cada una de ellas, lo cual determina su expresión clínica, que constituye el aspecto primario y determinante para la evaluación del paciente, así como la indicación de los estudios diagnósticos de forma coherente mediante la utilización secuencial de los estudios de laboratorio y otros necesarios para confirmar el diagnóstico. (Tabla 1)

Tabla 1. Características de varias formas de AHA

Forma clínica	Frecuencia %	T.A.D.	Clase de Ig	Especificidad antigénica	Sitio de hemólisis
Ac. calientes	60-70	IgG+ o IgG+/C3d+	IgG	Anti-Rh	Extravascular
AC. Fríos	20-25	Neg. C3d+	IgM	Anti-I	Extra o intravascular
Hemoglobinuria paroxística de frío	6-12	Neg. C3d+	IgG	Anti-P	Intravascular



Ac. mixtos	< 5	IgG+/C3d+ IgG+ C3d+	IgG/IgM	Anti-Rh Anti-I	Extra e e intravascular
------------	-----	---------------------------	---------	-------------------	----------------------------

AHA: anemia hemolítica autoinmune; TDA: test antiglobulina directo; Ig: inmunoglobulina

Los estudios iniciales para la evaluación de un paciente en el que se sospecha AHA, están encaminados a demostrar la existencia de hemólisis autoinmune y otros aspectos generales de su estado clínico que pueden ser considerados estudios de primera línea, entre los que se encuentran: recuento leucocitario, lámina periférica, morfología de los glóbulos rojos, conteo de reticulocitos, índice de hemólisis (haptoglobina, bilirrubina indirecta, LDH), tests directo e indirecto de antiglobulina, grupo sanguíneo, pruebas de función hepática y renal, análisis de orina y tipificación eritrocitaria amplia previa a posible transfusión.

Los estudios de segunda línea se realizan con el objetivo de identificar las causas potenciales de la AHA secundaria. Ellos son: determinación de C3, C4 y CH50 (actividad total del complemento); autoanticuerpos (ANA, anti DNA), anticuerpos antifosfolipídicos, test para artritis reumatoide; estudios de función tiroidea y anticuerpos antitiroideos (anti-TG, anticuerpo tiroideo peroxidasa [TPO]); subpoblaciones de linfocitos (CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56); marcadores para hepatitis B, C y VIH; serología; estudio hemostático; proteínas totales, electroforesis de proteínas y cuantificación de subclases de inmunoglobulinas; proteína C reactiva; estudio serológico para virus de Ebstein Barr, citomegalovirus, parvovirus B-19 y virus de herpes simple así como estudios para enfermedades infecciosas si procede.

El complemento y las subpoblaciones linfocitarias en la fisiopatología de la AHA:

En la AHA se han señalado diversos componentes del sistema inmune que están involucrados en la patogénesis de la enfermedad.

La vía clásica del complemento y con algunas excepciones su vía terminal, están en estrecha relación con la fisiopatología de la AHA. En la enfermedad primaria por aglutininas de frío, el síndrome de aglutininas de frío secundario y la hemoglobinuria paroxística de frío, el proceso hemolítico es completamente dependiente del complemento y su activación puede también jugar un importante papel patogénico en algunas AHA por anticuerpos calientes, en especial cuando está involucrada la inmunoglobulina M.^(24,25) Este concepto tiene particular relevancia para la terapia relacionada con el complemento, ya que en el momento actual, varios inhibidores de este sistema son candidatos terapéuticos en los pacientes con AHA, y algunas de estas drogas parecen prometedoras.^(26,27)

De igual forma, se ha propuesto un importante papel fisiopatológico para la sub-clase CD8⁺CD57⁺ de células regulatorias específicas, las cuales se encuentran con mayor frecuencia en los pacientes con la enfermedad que en controles normales, y se conoce que en las formas secundarias de AHA, más del 60 % de los casos guardan estrecha relación con este subtipo de células, tanto en las formas por anticuerpos calientes, fríos o la mixta,⁽²⁸⁾ pues estos enfermos muestran una elevada frecuencia de síntomas vasculares periféricos y consumo del complemento. Se ha señalado que los pacientes con AHA, que tienen respuesta completa al tratamiento muestran niveles inferiores de células CD8⁺CD57⁺, mientras que aquellos sin respuesta o con respuesta terapéutica parcial, evidencian una elevada frecuencia de células CD8⁺CD57⁺ cuando se comparan con controles, por lo que puede considerarse que el monitoreo de esta sub-clase de linfocitos antes y después del tratamiento podría tener un valor pronóstico. Aún más, las células CD8⁺CD57⁺ podrían representar un posible marcador terapéutico para restaurar el balance entre las poblaciones de linfocitos.⁽²⁹⁾

CONCLUSIONES

El conocimiento de las causas de AHA permite una comprensión clara de su clasificación y contribuye de manera decisiva, en la decisión terapéutica. De igual forma, la cabal comprensión de los mecanismos fisiopatológicos involucrados en cada uno de los sub-tipos de la enfermedad constituye la base para su identificación, y la evaluación de las opciones terapéuticas que deben ser utilizadas en cada paciente. Los actuales protocolos para el tratamiento incluyen una nueva generación de anticuerpos contra tipos particulares de linfocitos T y otros marcadores, como los factores del sistema del complemento.

Algunas drogas que se sabe son efectivas en el tratamiento de la trombocitopenia inmune primaria y el síndrome de Evans-Fisher, enfermedades con mecanismos patogénicos muy similares a la AHA, poseen un mecanismo de acción dirigido a estas alteraciones inmunológicas, por lo que podrían remplazar la esplenectomía e incluso la terapia esteroidea en el tratamiento de los pacientes con esta enfermedad.

La actualización de los conocimientos acerca de los mecanismos inmunológicos específicos que participan en cada una de las formas de este trastorno hematológico, permitirá a los médicos encargados de su atención desarrollar un trabajo diagnóstico y terapéutico más exacto, tanto para la atención pediátrica como aquellos que atienden pacientes adultos. La aparición de nuevos conocimientos sobre la fisiopatología y clasificación de este trastorno indican la necesidad de que los profesionales médicos que atienden pacientes con AHA dispongan de una guía actualizada para dicha labor.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés.

Contribución de los autores

Los autores contribuyeron de igual medida en la confección del estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Garratty G. Immune hemolytic anemia associated with drug therapy. Blood [Internet] 2010 [citado 20/05/2019]; 24(4-5): [aprox. 7p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20650555>
2. Walter JE, Farmer JR, Foldvari Z, Torgerson TR, Cooper MA. Mechanism-based strategies for the management of autoimmunity and immune dysregulation in primary immunodeficiencies. J Allergy Clin Immunol Pract. [Internet] 2016 [citado 20/05/2019]; 4(6): [aprox. 11p.]. Disponible en: [https://www.jaci-inpractice.org/article/S2213-2198\(16\)30379-8/fulltext](https://www.jaci-inpractice.org/article/S2213-2198(16)30379-8/fulltext)
3. Barcellini W, Fattizzo B, Zaninoni A, Radice T, Nichele I, Di Bona E, et al. Clinical heterogeneity and predictors of outcome in primary autoimmune hemolytic anemia: a GIMEMA study of 308 patients. Blood. [Internet] 2014 [citado 20/05/2019]; 124(19): [aprox. 6p.]. Disponible en: <http://www.bloodjournal.org/content/124/19/2930?sso-checked=true>
4. Roumier M, Loustau V, Guillaud C, et al. Characteristics and outcome of warm autoimmune haemolytic anemia in adults: new insights based on a single-center experience with 60 patients. Am J Hematol [Internet] 2014 [citado 20/05/2019]; 89(9): [aprox. 5p.]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajh.23767>



5. Michel M, Jäger U. Autoimmune hemolytic anemia. In: Hoffman R. Hematology. Basic Principles and Practice. Seventh ed. Elsevier Inc; 2017. p. 648-62.
6. Barcellini W. New insights in the pathogenesis of autoimmune hemolytic anemia. Transfus Med Hemother. [Internet] 2015 [citado 20/05/2019]; 42(5): [aprox. 6p.]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/283534235_New_Insights_in_the_Pathogenesis_of_Autoimmune_Hemolytic_Anemia
7. Price S, Shaw PA, Seitz A, Joshi G, Davis J, Niemela JE, et al. Natural history of autoimmune lymphoproliferative syndrome associated with FAS gene mutations. Blood. [Internet] 2014 [citado 20/05/2019]; 123(13): [aprox. 11p.]. Disponible en: <http://www.bloodjournal.org/content/123/13/1989>
8. Packman CH. Hemolytic anemia resulting from immune injury. En: William's Hematology. Ninth Edition: Booksmedicosorg; 2016. p.823-46.
9. Arthold C, Skrabs C, Mitterbauer-Hohendanner G, et al. Cold antibody autoimmune hemolytic anemia and lymphoproliferative disorders: a retrospective study of 20 patients including clinical, hematological and molecular findings. Wien Klin Wochenschr [Internet] 2014 [citado 20/05/2019]; 126(11-12): [aprox. 3p.]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00508-014-0547-z>
10. Richard C, Friedberg Vandita P. Autoimmune Hemolytic Anemia. En: Wintrobe's Clinical Hematology. 13th ed. Walters Kluwer Health; 2013. p. 1728-68.
11. Allgood JW, Chaplin H. Idiopathic acquired autoimmune hemolytic anemia. A review of forty-seven cases treated from 1955 through 1965. Am J Med [Internet] 1967 [citado 20/05/2019]; 43(2): [aprox. 20p.]. Disponible en: <https://europepmc.org/abstract/med/6034957>
12. Garratty G. Drug-induced immune hemolytic anemia. Hematol Am SocHematolEduc Program [Internet] 2009 [citado 20/05/2019]; s/v: [aprox. 6p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20008184>
13. Swiecicki PL, Hegerova LT, Gertz MA. Coldagglutininidisease. Blood. [Internet] 2013 [citado 20/05/2019]; 122(7): [aprox. 7p.]. Disponible en: <http://www.bloodjournal.org/content/122/7/1114?sso-checked=true>
14. Dacie SJ. The immune haemolyticanaemias: a century of exciting progress in understanding. Br J Haematol [Internet] 2001 [citado 20/05/2019]; 114: [aprox. 16p.]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1365-2141.2001.02945.x>
15. Hebbel RP, Key NS. Microparticles in sickle cell anaemia: promise and pitfalls. Br J Haematol [Internet] 2016 [citado 20/05/2019]; 174(1): [aprox. 14p.]. Disponible en: <https://experts.umn.edu/en/publications/microparticles-in-sickle-cell-anaemia-promise-and-pitfalls>
16. Camus SM, De Moraes JA, Bonnin P, Abbyad P, Le Jeune S, Lionet F, et al. Circulating cell membrane microparticles transfer heme to endothelial cells and trigger vasoocclusions in sickle cell disease. Blood [Internet] 2015 [citado 20/05/2019]; 125(24): [aprox. 9p.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1182/blood-2014-07-589283>



17. Kamesaki T, Toyotsuji T, Kajii E. Characterization of direct antiglobulin test-negative autoimmune hemolytic anemia: A study of 154 cases. *Am J Hematol* [Internet] 2013 [citado 20/05/2019]; 88(2): [aprox. 5p.]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/233738500_Characterization_of_direct_antiglobulin_test-negative_autoimmune_hemolytic_anemia_A_study_of_154_cases
18. Segel GB, Lichtman MA. Direct antiglobulin ("Coombs") test-negative autoimmune hemolytic anemia: A review. *Blood Cells Mol Dis* [Internet] 2014 [citado 20/05/2019]; 52(4): [aprox. 8p.]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1079979613002702?via%3Dihub>
19. Mahévas M, Michel M, Vingert B, et al. Emergence of long-lived autoreactive plasma cells in the spleen of primary warm autoimmune hemolytic anemia patients treated with rituximab. *J Autoimmun* [Internet] 2015 [citado 20/05/2019]; 62: [aprox. 8p.]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896841115000773>
20. Brodsky RA. Complement in hemolytic anemia. *Blood* [Internet] 2015 [citado 20/05/2019]; 126(22): [aprox. 7p.]. Disponible en: <http://www.bloodjournal.org/content/126/22/2459>
21. Berentsen S. Complement activation and inhibition in autoimmune hemolytic anemia: Focus on cold agglutinin disease. *Seminars in Hematology* [Internet] 2018 [citado 20/05/2019]; 55(3): [aprox. 9p.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2018.04.002>
22. Go RS, Winters JL, Kay NE. How I treat autoimmune hemolytic anemia. *Blood*. [Internet] 2017 [citado 20/05/2019]; 129(22): [aprox. 9p.]. Disponible en: <http://www.bloodjournal.org/content/129/22/2971>
23. Lai M, De Stefano V, Landolfi R. Haemoglobin levels in autoimmune haemolytic anaemias at diagnosis: relationship with immunoproteins on red blood cells. *Immunol Res* [Internet] 2014 [citado 20/05/2019]; 60(1): [aprox. 5p.]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12026-014-8497-0>
24. Berentsen S. Role of complement in autoimmune hemolytic anemia. *TransfusMedHemother* [Internet] 2015 [citado 20/05/2019]; 42(5): [aprox. 10p.]. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Role-of-Complement-in-Autoimmune-Hemolytic-Anemia.-Berentsen/afc3495da4abce7332c5a5690fbbd60c7b6f0433>
25. Reynaud Q, Durieu I, Dutertre M, Ledochowski S, Durupt S, Michallet AS, et al. Efficacy and safety of rituximab in auto-immune hemolytic anemia: a meta-analysis of 21 studies. *Autoimmun Rev* [Internet] 2015 [citado 20/05/2019]; 14(4): [aprox. 9p.]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1568997214002869>
26. Wouters D, Stephan F, Strengers P, de Haas M, Brouwer C, Hagenbeek A, et al. C1-esterase inhibitor concentrate rescues erythrocytes from complement-mediated destruction in autoimmune hemolytic anemia. *Blood*. [Internet] 2013 [citado 20/05/2019]; 121(7): [aprox. 2p.]. Disponible en: <http://www.bloodjournal.org/content/121/7/1242>
27. Jäger U, Gilbert JC, Panicker S, et al. The anti C1S complement antibody TNT009 induces rapid complete remissions of anaemia in patients with primary cold agglutinin disease. *Annual Congress of the European Hematology Association* [Internet]. Medical University of Vienna; 2016 [citado 20/05/2019]. Disponible en:



<https://library.ehaweb.org/eha/2016/21st/135348/ulrich.jger.the.anti.c1s.complement.antibody.tnt009.induces.rapid.complete.html>

28. Fatone M C, Pavone F, Lauletta G, Russi S. Features of peripheral CD8+CD57+ lymphocytes in patients with autoimmune hemolytic anemia. *Autoimmunity* [Internet] 2018 [citado 20/05/2019]; 51(4): [aprox. 8p.]. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08916934.2018.1477132?journalCode=iaut20>

29. Fattizzo B, Zaninoni A, Nesa F, Sciumbata VM, Zanella A, Cortelezzi A, et al. Lessons from very severe, refractory, and fatal primary autoimmune hemolytic anemias. *Am J Hematol.* [Internet] 2015 [citado 20/05/2019]; 90(8): [aprox. 2p.]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajh.24047>

