

1

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**ANEMIA HEMOLITICA INDUCIDA POR  
DROGAS**

295724

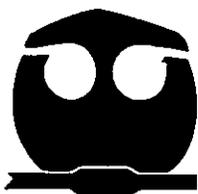
**TRABAJO ESCRITO VIA CURSOS  
DE EDUCACION CONTINUA**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :

Q.F.B. BIOQUIMICO-MICROBIOLOGICA

**P R E S E N T A :**

**DOLORES ANDREA ALONSO GONZALEZ**



MEXICO, D.F.



**EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA**

2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

GRACIAS DIOS MIO POR FORTALECER  
CONSTANTEMENTE MI ESPÍRITU

A mi querido padre, Guillermo Alonso.  
Por la fé que siempre ha tenido en mí.

A mi amado esposo César A. Domínguez.  
Por su apoyo y comprensión.

A mi querida madre Leonor González.  
Por ser ejemplo de valentía.

A mi adorada hija Aline.  
Inspiración de mi vida.

A mis Hermanos y Sobrinos.

Esperando que sea motivación para continuar con sus estudios.

Cuando ofrezca tu camino solo cuestas por subir,  
descansar acaso debes pero nunca desistir.

Rudyard Kipling  
Escritor británico.

A mi mejor amiga Rosalinda Tovar.

Gracias por todo.

A mis profesores.

E. en B.C. Eva Calderón G.

Dra. Amalia Bravo L.

Dr. José Luis Domínguez Torix.

Gracias por hacer menos difícil la conclusión de esta meta.

Con cariño y agradecimiento a cada una de las personas que han beneficiado e influenciado mi vida. Dolores Alonso B., Leonor Mejía, Eréndira Hernández, y el Dr. en C.N. Jesús Soberón M.

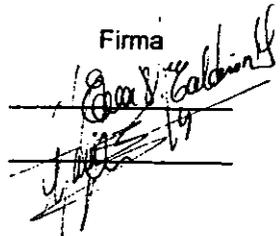
**Jurado Asignado**

**Presidente** PROFESOR JOSÉ LUIS DOMÍNGUEZ TORIX  
**Vocal** PROFESORA EVA DELIA CALDERÓN GARCIDUEÑAS  
**Secretario** PROFESORA AMALIA GUADALUPE BRAVO LINDORO  
**1er. Sup.** PROFESOR GUILLERMO ESCAMILLA  
**2do. Sup.** PROFESOR SERGIO SÁNCHEZ GUERRERO

**Sitio donde se desarrollo el tema:** Bibliotecas del Sector Salud

**Asesor del tema** E. en B. C. Eva Delia Calderón Garcidueñas  
**Sustentante** Dolores Andrea Alonso González

Firma



# INDICE

INTRODUCCIÓN	1
I. GENERALIDADES	2
II. ANEMIAS HEMOLÍTICAS INDUCIDA POR DROGAS	10
III. MECANISMOS DE INDUCCIÓN	13
IV. INCIDENCIAS	21
V. PRUEBAS DE LABORATORIO	23
CONCLUSIONES	37
REFERENCIAS	38

## INTRODUCCION

La aplicación indiscriminada de algunas drogas que son utilizadas en tratamientos para infecciones bacterianas, así como en otras enfermedades, como la hipertensión arterial, leucemia mielomonocítica, mal de Parkinson y otros más, han sido las causantes de inducir en algunos pacientes anemia hemolítica, que al asociarse con déficit de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G6PD), insuficiencia hepática, alteraciones en la membrana del eritrocito o con una hemólisis traumática aumenta su severidad.

En este trabajo observaremos como algunas drogas de uso terapéutico, tales como la metildopa, cefalosporina, penicilina, rifampicina, quinina, sulfamidas, antipalúdicos, nitrofurantoína, causan un desequilibrio al cuerpo humano, desencadenando una serie de respuestas por parte de las defensas que trata de guardar la integridad. Así como los mecanismos que provocan esas respuestas y sus manifestaciones clínicas, pruebas de laboratorio y los tratamientos que se han seguido para su corrección.

Por lo que resulta indispensable que los médicos adopten una actitud más selectiva y más crítica ante el empleo de estos medicamentos, que en un momento dan la solución a algunas enfermedades pero provocan efectos secundarios de más difícil curación.

## I.- GENERALIDADES

El cuerpo humano posee una homeostasis que mantiene constantes las condiciones de su medio ambiente interno, regula los volúmenes de sangre y líquidos extra-celulares y las concentraciones de solutos, de la misma forma controla los procesos reguladores que aseguran la constancia o reducen al mínimo las fluctuaciones, de prácticamente todas las funciones fisiológicas del cuerpo.<sup>1</sup>

La sangre es un tejido que fluye por el organismo en un circuito cerrado de vasos, con dos circulaciones diferentes: pulmonar y sistémica, en las cuales el corazón actúa como una bomba para cada una de ellas.<sup>3</sup>

La sangre transporta sustancias y hormonas a las células del organismo y retira el bióxido de carbono y otros productos de desecho resultantes del metabolismo.<sup>1</sup>

La sangre transporta a un conjunto de células especializadas en el desempeño de ciertas funciones; lleva a las células elementos nutritivos y oxígeno, extrae de las mismas productos de desecho. Transporta hormonas, secretadas por glándulas endocrinas, importantes en la regulación del cuerpo. La sangre también toma parte en la regulación de la temperatura del cuerpo. El plasma absorbe y cede constantemente sustancias al pasar por los capilares, aunque su composición permanece notablemente constante, cualquier cambio en su composición inicia respuestas por parte de uno o más órganos del cuerpo para restaurar su equilibrio normal.<sup>1</sup>

Las células sanguíneas se producen en la médula ósea y se dividen en dos grandes grupos: mieloides y linfoides.<sup>2</sup>

Las células mieloides en la sangre periférica son eritrocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y plaquetas; las células linfoides comprenden los diversos tipos de linfocitos.<sup>2</sup>

En ambos grupos celulares, los eritrocitos, neutrófilos segmentados, eosinófilos, basófilos y plaquetas, son elementos maduros; los monocitos y linfocitos presentan un grado intermedio de maduración y pueden originar elementos todavía más maduros.<sup>2</sup>

### **Eritrocitos**

Los glóbulos rojos o eritrocitos son discos bicóncavos, de siete a ocho micras de diámetro y grueso de una a dos micras. Los eritrocitos maduros no poseen núcleo, lo pierden en el curso del desarrollo desde la célula precursora, el eritroblasto. Su estructura elástica interna, a la vez que conserva la forma discoidal, permite que esta célula cambie de forma, para poder pasar a lo largo de vasos capilares con diámetro más angosto que el suyo propio. Los eritrocitos no se mueven activamente, sino que simplemente flotan en la

corriente sanguínea, a su vez impulsada por la acción cardiaca. Cada glóbulo rojo contiene aproximadamente 265 000 000 moléculas de hemoglobina, el pigmento rojo que da a estas células su color y al cual corresponde el transporte de oxígeno.<sup>1</sup>

El número de eritrocitos liberados por la médula ósea es controlado por varios factores:<sup>3</sup>

1. Presión parcial de O<sub>2</sub>
2. Eritropoyetina: (hormona estimuladora de la médula ósea para la síntesis de los glóbulos rojos).<sup>11,13</sup>
3. Hormonas sexuales masculinas por lo que los hombres tienen más eritrocitos que las mujeres.<sup>3</sup>

Los hematíes recién liberados de la médula ósea se denominan reticulocitos por contener un material (ribosomas y mitocondrias) que aparece como una red (retículo) después de una tinción supravital.<sup>3</sup>

Los eritrocitos tienen una vida media de 120 días; sobreviven 4 meses en la circulación antes de ser destruidos por el sistema fagocítico mono nuclear.<sup>3</sup>

En los pulmones el O<sub>2</sub> penetra en los hematíes y se fija a la hemoglobina. Su molécula consiste en un anillo de porfirina con un átomo central de hierro (HEM) y una proteína globular constituida por cuatro subunidades, cada una de las cuales transporta un grupo hem.<sup>3</sup>

Existe una correlación entre el número de hematíes circulantes y su capacidad para transportar oxígeno. El número de hematíes por litro de sangre se denomina recuento globular. El porcentaje de hematíes por unidad de volumen de sangre se llama hematócrito. La concentración de hemoglobina presente en una unidad de volumen de sangre se conoce como concentración de hemoglobina.<sup>3</sup>

	HOMBRES	MUJERES
Hematocrito	42 ± 7%	40 ± 5%
Recuento de hematíes	5.5 ± 1.0 X 10 <sup>5</sup> /mm <sup>3</sup>	4.8 ± 1.0 X 10 <sup>5</sup> /mm <sup>3</sup>
Concentración de hemoglobina	13.8 ± 2.5g/dL	12.5 ± 2.5g/dL

Cuando esos valores son bajos podemos decir que una persona está anémica y por consiguiente el transporte de oxígeno puede estar disminuido. La capacidad de los hematíes para transportar oxígeno puede determinarse midiendo la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno.

El contenido de oxígeno de la sangre (ml O<sub>2</sub>/ ml de sangre) se determina por la concentración de hemoglobina, el coeficiente de unión del oxígeno con la hemoglobina normal, la saturación de oxígeno de la hemoglobina (%), y la cantidad de oxígeno disuelta en el plasma. Esto se describe<sup>7</sup>:

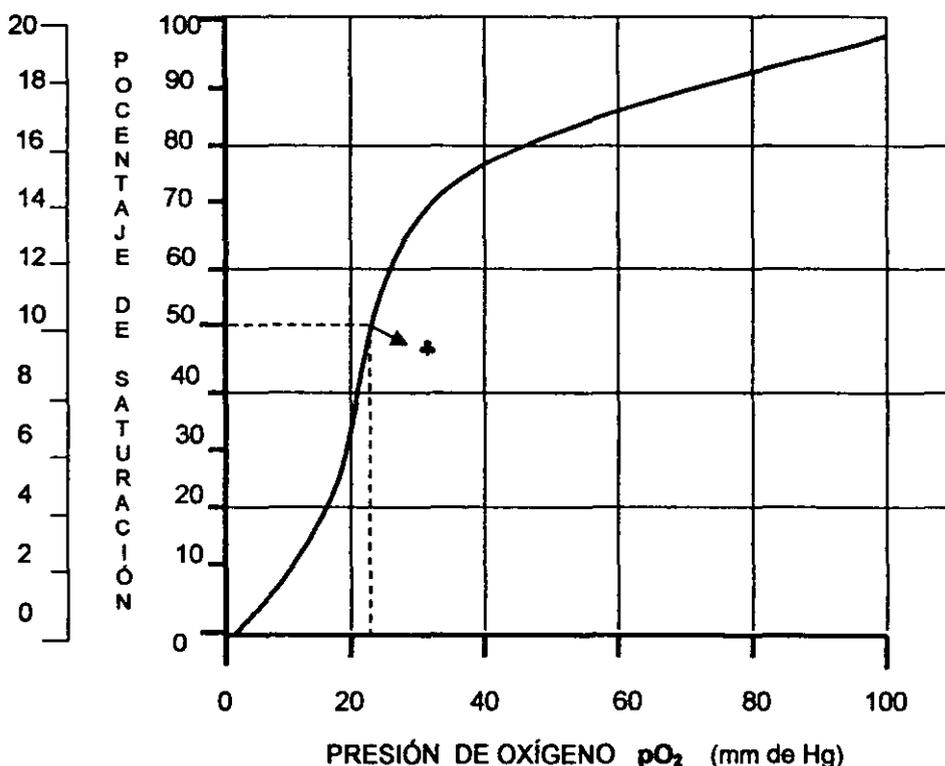
Contenido de O<sub>2</sub> = (Hb x 1,39 x % sat) + (pO<sub>2</sub> x 0,003)  
 siendo 1.39 ml de O<sub>2</sub> lo que satura 1gr de hemoglobina.

El consumo de oxígeno hístico se calcula como la diferencia entre el aporte de oxígeno en la sangre arterial y el retorno por sangre venosa:

$$\text{Consumo de O}_2 = \text{Gasto cardíaco} \times \text{Hb} \times 1,39 \times (\% \text{ sat}_{\text{arterial}} - \% \text{ sat}_{\text{venosa}})$$

La fijación de una molécula de oxígeno al hem hace que la hemoglobina cambie de forma, permitiendo a la siguiente molécula de oxígeno acceder más fácilmente a otro lugar de fijación. La relación entre la concentración de oxígeno en la sangre  $pO_2$  (presión parcial de oxígeno) y la proporción del  $O_2$  unida a la hemoglobina (% de saturación) oxihemoglobina describe una curva sigmoidea<sup>3</sup>.

Hb



♣ La  $p50$  es igual a 26.8 mm Hg.

Es la afinidad de la Hb por el  $O_2$  que se caracteriza por el parámetro  $p50$  que significa la presión parcial de  $O_2$  que produce el 50% de saturación de la Hb, en un sujeto normal a Temp. de  $37^\circ C$  con una Hb normal y una presión de  $CO_2$  de 40 mm Hg. Teniéndose un pH de 7.4

## **Efecto bohr.**

La afinidad de la Hb por el O<sub>2</sub> puede estar alterada por diversas condiciones fisiológicas o patológicas, observándose un desplazamiento de la curva hacia la derecha o hacia la izquierda por el aumento o disminución de los siguientes factores.

La acción del pH sobre la pO<sub>2</sub> así como la concentración de la pCO<sub>2</sub> y la producción del 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG).

a).-en acidosis la curva se desplaza a la derecha y en la alcalosis esta se desplaza a la izquierda.

b).-la baja de CO<sub>2</sub> desplaza la curva hacia la izquierda y el aumento de CO<sub>2</sub> la desplaza hacia derecha.

c).- la producción 2,3-DPG disminuye la afinidad de la Hb por el oxígeno por lo tanto la curva de disociación del oxígeno está desplazada hacia la derecha .

Cuando la curva se desplaza hacia la derecha, la afinidad de la Hb por el O<sub>2</sub> baja, facilitando la liberación del O<sub>2</sub> a los tejidos.

Y cuando la curva se desplaza hacia la izquierda, la afinidad de la hemoglobina por el O<sub>2</sub> aumenta, haciendo mas difícil la liberación del O<sub>2</sub> manteniendo una saturación mas elevada.<sup>3,10,13</sup>

**Necesidades de oxígeno de los pacientes.**

Una pérdida de sangre aguda de 30% (1200-1500 ml), reducirá la Hb a unos 11g/dl y por consiguiente, también se reducirá el contenido de O<sub>2</sub> de 14 ml /100ml de sangre (1.34 x 11 x 100) esto se compensa mediante un aumento de la liberación de O<sub>2</sub> de los tejidos por la acidosis de éstos, causada por la acumulación de lactato y piruvato (efecto bohr), y un incremento del gasto cardiaco.<sup>13</sup>

## **ANEMIA**

**Definición.**- literalmente; del griego Haima; sangre.

Clínicamente; disminución de la masa de sangre o de algunos Componentes, especialmente corpúsculos rojos o hemoglobina.<sup>14</sup>

### **Anemias Hemolíticas**

**Definición.**- la anemia hemolítica es la destrucción acelerada de los glóbulos rojos maduros. Y puede ser aguda o crónica.

Toda hemólisis o pérdida de hematíes provoca una mayor producción de eritrocitos, y esto se manifiesta clínicamente por aumento del índice de formación de reticulocitos a más del triple de lo normal.<sup>4</sup>

Existen varios procesos que pueden abreviar la supervivencia de los hematíes y producir anemia, si la médula ósea no es capaz de reponer los eritrocitos que se destruyen prematuramente. Los procesos que se asocian con la anemia hemolítica se identifican generalmente por la anomalía que ocasiona la destrucción prematura de los hematíes.<sup>3,4,11</sup>

En todos los pacientes con anemia hemolítica, el paciente puede quejarse de fatiga y otros síntomas de anemia. Menos veces, los pacientes refieren ictericia y una orina de color pardo rojizo (hemoglobinuria).

Son importantes para el diagnóstico una historia completa sobre posibles contactos con fármacos y agentes tóxicos y la historia familiar. La exploración física puede descubrir ictericia de piel y mucosas; a veces se encuentran los signos cardíacos de la anemia (soplos de eyección, etc.). Varias anemias hemolíticas cursan con esplenomegalia<sup>4</sup>.

**Las anemias hemolíticas pueden ser producidas por:**

- 1) Un defecto molecular (hemoglobinopatía o enzimopatía) intrínseco al hematíe.
- 2) Una alteración en la estructura y función de la membrana.
- 3) Un factor ambiental, como los traumatismos mecánicos o la acción de un autoanticuerpo.<sup>4</sup>

De acuerdo con las alteraciones mencionadas, se clasifican en :

Hereditarias	}	1. Alteraciones intrínsecas del hematíe
		<ol style="list-style-type: none"> <li>a. Defectos enzimáticos</li> <li>b. Hemoglobinopatías</li> </ol>
Adquiridas	}	2. Alteraciones de la membrana
		<ol style="list-style-type: none"> <li>a. Esferocitosis hereditaria</li> <li>b. Hemoglobinuria paroxística nocturna</li> <li>c. Anemia con hematíes espiculados</li> </ol>
		3. Factores extrínsecos
		<ol style="list-style-type: none"> <li>a. Hiperesplenismo</li> <li>b. Por anticuerpos: hemólisis inmunitaria</li> <li>c. Hemólisis microangiopática</li> <li>d. Infecciones, toxinas, drogas, etc.</li> </ol>

Los análisis de laboratorio se realizan: a).- para demostrar la existencia de hemólisis y b).- para investigar su causa.

El aumento en el número de reticulocitos es el indicador más útil, porque refleja la hiperplasia eritroide de la médula

#### Morfología eritrocitaria en el diagnóstico de las anemias hemolíticas.<sup>4</sup>

Morfología	Causa	Síndromes
Esferocitos	Pérdidas de la membrana	Esferocitosis hereditaria, anemia hemolítica autoinmunitaria
Dianocitos	Aumento del cociente superficie/volumen de los hematíes	Hemoglobinopatías: talasemias; hemoglobina S, C, etc.; hepatopatías
Esquistocitos	Rotura traumática de la membrana	Procesos microangiopáticos, prótesis intravasculares
Hematíes falciformes	Polimerización de la hemoglobina S	Síndromes drepanocíticos
Acantocitos	¿Lípidos de la membrana anormales?	Hepatopatías graves (anemias con hematíes espiculados)
Hematíes aglutinados	Presencia de anticuerpos IgM	Enfermedad por crioaglutininas
Cuerpos de Heinz	Hemoglobina precipitada	Hemoglobinas inestables, estrés oxidante

**Anemias hemolíticas hereditarias.** Las anemias hemolíticas heredadas se deben a alteraciones genéticas de alguno de los tres componentes de los hematíes: la membrana, las enzimas o la hemoglobina.<sup>4,11</sup>

**1.-Transtornos de las membranas de los hematíes.** Estos suelen descubrirse fácilmente, por las alteraciones morfológicas de los hematíes observables en los frotis de sangre periférica. Existen tres tipos de alteraciones hereditarias:

La esferocitosis hereditaria, la eliptosis hereditaria (incluida la piroptocitosis hereditaria) y la estomatocitosis hereditaria.<sup>4,12</sup>

**2.- Defectos enzimáticos de los hematíes.** Mientras maduran, los hematíes van perdiendo su núcleo, los ribosomas y las mitocondrias y, por tanto, su capacidad para la síntesis de proteínas y la fosforilización oxidativa. El metabolismo intermediario de los hematíes maduros circulantes es bastante simple en consonancia con sus moderadas exigencias metabólicas. El hematíe tiene que obtener el ATP por la vía Embden-Meyerhof para poder manejar la bomba de cationes que mantiene el medio iónico intraeritrocitario. También se necesita energía en pequeña cantidad para mantener al hierro de la hemoglobina en estado ferroso ( $Fe^{2+}$ ) y quizá para renovar los lípidos de la membrana eritrocitaria. Un 10% aproximadamente de la glucosa que consumen los hematíes se metaboliza a través de la vía de la hexosa-monofosfato. Esta vía protege a la hemoglobina y a la membrana de los oxidantes exógenos, entre ellos ciertos fármacos<sup>4,11,13</sup>.

**3.- Defectos de la vía de Embden-Meyerhof.** Se han publicado déficit de la mayoría de las enzimas de la vía de la glucólisis o de Embden-Meyerhof. En general, todas estas enzimopatías tienen una fisiopatología y unas manifestaciones clínicas parecida.

Los pacientes presentan una anemia congénita no esferocítica de intensidad variable. Los hematíes suelen tener un déficit relativo de ATP, considerando su temprana edad. Como consecuencia de ello, se pierde parte del potasio intracelular. Las alteraciones morfológicas de los hematíes indican que la membrana eritrocitaria se altera secundariamente al defecto enzimático. Estos hematíes tienen tendencia a ser más rígidos y a ser secuestrados más fácilmente por el sistema mononuclear fagocítico<sup>4</sup>.

Algunos de estos déficit de las enzimas glucolíticas, como la piruvatoquinasa (PK) y la hexocinasa, son exclusivas del hematíe<sup>4</sup>.

**4.- Defectos en la vía de la hexosa-monofosfato.** El hematíe normal posee una dotación suficiente de glutatión para estar protegido contra los agentes oxidantes. Durante la exposición a un fármaco o agente tóxico capaz de generar radicales de oxígeno, la cantidad de glucosa que se metaboliza a través de la vía de la hexosa-monofosfato aumenta normalmente varias veces. De esta forma se regenera el glutatión reducido y se protege de la oxidación a los grupos sulfhidrilo de la hemoglobina y a la membrana de los hematíes. Los individuos con defectos heredados de la vía de la hexosa-monofosfato no pueden mantener en sus hematíes un nivel suficiente de glutatión reducido. Como consecuencia de ello, los grupos sulfhidrilo de la hemoglobina se oxidan, y la hemoglobina tiende a precipitar dentro del hematíe formando los cuerpos de Heinz<sup>4,11</sup>.

Lo más frecuente es que los episodios de hemólisis sean desencadenados por infecciones virales y bacterianas. Se desconoce el mecanismo por el que ocurre esto. Además, los fármacos y agentes tóxicos que amenazan con oxidar a los hematíes producen hemólisis en los individuos con déficit de G6PD.

La ingestión accidental de agentes tóxicos, como el naftaleno (que se encuentra en las bolas de naftalina), puede causar una hemólisis grave. Finalmente, la acidosis metabólica puede desencadenar un episodio de hemólisis en los sujetos con déficit de G6PD.

#### **Fármacos que producen hemólisis en las personas con déficit de G6PD**

---

Antipalúdicos: primaquina, pamaquina, dapsona

Sulfamidas: sulfametoxazol

Nitrofurantoína

Analgésicos: acetanilida

Diversos: vitamina K (forma hidrosoluble), doxorubicina, cloruro de metiltioninio, ácido nalidixico, furazolidona, niridazol, fenazopiridina

---

Debe prestarse atención a la prevención de las crisis hemolíticas. Las personas con déficit de G6PD deben estar advertidas sobre los riesgos que plantean los fármacos oxidantes y las habas frescas (vicia fava), cuya ingestión produce anemia hemolítica aguda en personas susceptibles. En el que existe un efecto intrínseco en los eritrocitos además de un factor extrínseco en el plasma. Todo paciente con antepasados africanos o mediterráneos que vayan a tomar un fármaco oxidante debe someterse a las pruebas de detección selectiva del déficit de G6PD<sup>4,1</sup>

### **Anemias hemolíticas adquiridas**

En las A.H.A la lesión puede estar mediada por anticuerpos o tóxicos que dejan al hematíe marcado para una muerte prematura o puede depender de alguna vicisitud que incida sobre los hematíes circulantes, como la hiperactividad del sistema mononuclear fagocítico o la lisis traumática causada por obstáculos naturales o artificiales a su libre circulación<sup>4</sup>. Las anemias hemolíticas adquiridas pueden clasificarse en cinco grupos<sup>4,11</sup>.

### **CAUSAS DE ANEMIA HEMOLÍTICA ADQUIRIDA**

#### **I.- Atrapamiento**

#### **II.- Inmunitarias**

- A. Por anticuerpos
- B. Por anticuerpos IgM fríos (enfermedad por crioaglutinina)
- C. Por anticuerpos IgG fríos (hemoglobinuria paroxística al frío)
- D. Anticuerpos dependientes de fármacos**
  - 1. Autoinmunitaria
  - 2. De tipo hapteno

#### **III.- Anemia hemolítica traumática**

- A. Hemólisis por embate en la circulación
- B. Defectos macrovasculares
- C. Causas microvasculares
  - 1. Púrpura trombótica trombocitopénica/síndrome hemolítico-urémico
  - 2. Otras causas de alteraciones de la microcirculación
  - 3. Hemólisis intravascular diseminada

#### **IV.- Anemia hemolítica debida a acción tóxica sobre la membrana**

- A. Anemia hemolítica con hematíes espiculados
- B. Toxinas exógenas
  - 1. Picaduras de animales o de arañas
  - 2. Metales (p. ej., cobre)
  - 3. Compuestos orgánicos

#### **V.- Hemoglobinuria paroxística nocturna**

**Causas inmunitarias de hemólisis.** En los adultos, la hemólisis de origen inmunitario suele estar inducida por anticuerpos IgG o IgM dotados de especificidad para los antígenos asociados a los hematíes del paciente (conocidos a menudo como <autoanticuerpos>) en raras ocasiones, los hematíes trasfundidos pueden ser hemolizados por aloanticuerpos dirigidos contra los antígenos extraños situados en esas células.<sup>4</sup>

## II.- ANEMIA INMUNOHEMOLÍTICA INDUCIDA POR DROGAS

Las drogas (o sus metabolitos) pueden provocar reacciones de hipersensibilidad a las células sanguíneas, causando una variedad de efectos secundarios incluyendo la destrucción inmune de los eritrocitos, aunque la incidencia de anemia hemolítica inducida por drogas (AHID) es rara. La anemia hemolítica trombocitopénica y agranulocitosis pueden ocurrir separadamente, pero en algunos pacientes más de una línea de células puede ser afectada.<sup>6</sup>

Las drogas se pueden separar por su mecanismo de acción en dos clases de fármacos, que están implicados directamente en la anemia inmunoheemolítica: 1) los fármacos que, como la  $\alpha$ -metildopa (un hipotensor), induce un trastorno casi totalmente idéntico a la anemia inmunoheemolítica por anticuerpos calientes, y 2) fármacos capaces de asociarse como haptenos a la superficie de los hematíes y que inducen seguidamente la formación de un anticuerpo dirigido contra el complejo hematíe-fármaco. La unión del fármaco a la proteína de la membrana eritrocitaria puede ser bastante firme, como en el caso de la penicilina, o bastante laxa, como con la quinidina y la mayoría de los demás fármacos<sup>4</sup>.

La inducción a la formación de anticuerpos, ya sea contra la droga misma o contra antígenos eritrocitarios intrínsecos que pueden causar una prueba de Coombs directo positivo, destrucción eritrocitaria inmune, o ambas cosas. Algunos de los anticuerpos producidos parecen ser independientes de la presencia de la droga para su detección o capacidad destructiva, mientras otros no lo son. En algunos de los casos se puede producir una prueba de Coombs directa positiva por los efectos no inmunológicos de las drogas<sup>7</sup>.

Se observa una prueba de Coombs directa positiva hasta en un 10% de los pacientes que toman  $\alpha$ -metildopa en dosis de 2g/día o más. Una escasa minoría de estos pacientes presenta esferocitosis y pueden presentar hemólisis intensas. Este proceso <autoinmunitario> se debe probablemente a que la  $\alpha$ -metildopa altera la(s) proteína (s) del complejo Rh de modo que la proteína se vuelve inmunógena; los anticuerpos formados presentan entonces una reacción cruzada con la proteína Rh normal. Por lo tanto, el anticuerpo no reacciona con el fármaco, y la prueba de Coombs indirecta es positiva en casi todos los pacientes aunque no se añada el fármaco a la prueba. Los hematíes están recubiertos por IgG, pero no por C3. Una vez suspendido el tratamiento, la hemólisis va cediendo a lo largo de unas semanas aunque la prueba de coombs sigue siendo positiva durante más de un año.<sup>4</sup>

En otros muchos casos, cuando un fármaco provoca una reacción hemolítica autoinmunitaria, el anticuerpo se dirige contra la combinación del fármaco y la glucoproteína de la membrana a la que está unido. La reacción hemolítica *in vivo* depende de la presencia del fármaco y suele cesar poco después de interrumpirlo.

La penicilina y sus análogos pueden causar esta clase de reacción si se administran en dosis muy altas (10 millones de unidades diarias o más). En este caso, el fármaco se une con bastante intensidad a la proteína de la membrana eritrocitaria. No suele haber fijación del complemento, y la hemólisis in vivo no suele ser grave.<sup>4</sup>

Como el anticuerpo suele ser de tipo IgG puede haber esferocitosis y destrucción esplénica (destrucción extravascular).. La mayoría de los demás fármacos (como quinina, quinidina, sulfamidas, sulfoureas, fenacetina, estibofeno y dipirona) no se adhieren tan firmemente a sus glucoproteínas, y tanto ellos como los anticuerpos que originan son eliminados en las maniobras de lavado de las reacciones de Coombs directa e indirecta. La mayoría de estos anticuerpos son capaces de fijar el complemento (especialmente los de tipo IgM) y esos componentes siguen cubriendo la superficie del hematíe; por eso, la prueba de Coombs directa es positiva utilizando anti-C3, pero no anti-IgG. El anticuerpo se detecta en la prueba de Coombs indirecta sólo cuando se añade el fármaco a la mezcla en incubación. La hemólisis puede ser bastante intensa, produciendo a veces signos de hemólisis intravascular, pero la resolución suele ser rápida después de interrumpir el fármaco<sup>4</sup>.

Entre el 12% y el 18% de los AHAI son causados por la administración de drogas, las cuales conducen a una amplia variedad de anomalías hematológicas<sup>5</sup>.

El conocimiento de las manifestaciones clínicas y de las pruebas de laboratorio que conducen al diagnóstico, evita la confusión con otras formas de anemias hemolíticas inmunes, especialmente las idiopáticas. En el banco de sangre hay anomalías hematológicas causadas por las drogas que pueden confundir al técnico que está realizando las pruebas de compatibilidad.<sup>5</sup>

La mayoría de las drogas tienen un peso molecular muy por debajo de los 5000 daltons, que es el valor mínimo considerado para que una sustancia tenga capacidad antigénica<sup>7</sup>.

Las drogas actúan como haptenos, desencadenando la producción de anticuerpos solamente después que se han unido firmemente a una proteína que les sirve de mecanismo de transporte. El anticuerpo formado puede reaccionar con la droga independientemente de la proteína a la que esté unida. Los anticuerpos contra drogas pueden causar una prueba de Coombs directa Positiva, y ocasionalmente anemia hemolítica a través de 4 posibles mecanismos.<sup>7</sup>:

- Formación de complejos inmunes
- Adsorción de la droga
- Modificación de la membrana (Adsorción inespecífica).
- Formación de anticuerpos y autoanticuerpos.

## 2.1 DROGAS.<sup>7</sup>

Los fármacos que más frecuentemente se han referido en diferentes casos clínicos en la literatura médica son:

<b>Algunas cefalosporinas</b>			
Nombre genérico	Nombre comercial	Nombre genérico	Nombre comercial
<b>Primera generación</b>		<b>Segunda generación</b>	
Cefadroxil	Duricef	Cefaclor	Cedor
Cefazolina	Ancel, Kefzol	Cefamandol	Mandol
Cefalexina	Keflex	Cefmetazol	Zefazone
Cefalotina	Keflin	Cefonicit	Monocit
Cefapirina	Cefadil	Cefotetan	Cefotan
Cefradina	Anspor	Cefoxitina	Mefoxin
		Cefprocil	Cefzil
		Cefuroxima	Zinacef, Kefurox
		Cefuroxima axetil	Ceftin
<b>Tercera generación</b>			
Cefoperazona	Cefobid	Ceftizoxina	Cefizox
Cefotaxima	Claforan	Ceftriaxona	Rosefina
Ceftazidima	Fortaz, Ceptaz	Moxalactam	Moxam

### **Algunas drogas asociados con hemólisis inmune y Coombs directa positivo.**

Drogas	Acción terapéutica	Drogas	Acción terapéutica
Acetaminofeno	analgésico	Cefalosporinas	antibacteriano
Aminopirina	analgésico	Estibofeno	antiesquistosómico
Ampicilina	antibacteriano	Estreptomicina	antibacteriano
Anfotericina B	antimicótico	Fenacetina	analgésico
Antazolina	antihistamínico	Fenfluramida	anorexígeno
Apazona	antiinflamatorio	Fenoprofeno	antiinflamatorio
(azapropazona)	antiinflamatorio	Fluoresceína	colorante inyectabl
Butiazida	antihipertensivo	Fluorouracilo	antineoplásico
(Butazida)	antihipertensivo	Glafenina	analgésico
Carbenicilina	antibacteriano	HidralazinaHidroclor	antihipertensivo
Carbimazol	inhibidor tiroideo	rotiazida	diurético
Catergeno	enf. Hepática	Elliptinium	antineoplásico
Clorpropamida	antidiabético	Ibuprofeno	antiinflamatorio
Clorpromazina	antipsicótico	Insulina	antidiabético
Cisplatino	antineoplásico	Isoniazida	antibacteriano
Diclofenac	antiinflamatorio	Levodopa	antiparkinsoniano
Diglicoaldehído	antineoplásico	Ac. mefenámico	antiinflamatorio
ipirona	analgésico	Mefalán	antineoplásico
Eritromicina	antibacteriano	Metadona	anal. narcótico

### III. MECANISMOS DE INDUCCIÓN

#### 1.- FORMACIÓN DE COMPLEJOS INMUNES.

La mayoría de las drogas con algunas excepciones no se unen a la membrana de los eritrocitos, pero sí estimulan al paciente la formación de anticuerpos por un origen no bien conocido. Este anticuerpo se combina en el plasma con la droga circulante formando complejos **droga-antidroga**, los cuales se fijan o adsorben en forma inespecífica en la membrana de los glóbulos rojos.<sup>5,6,12</sup>

Las células con el complejo adsorbido pueden activar el complemento sobre su superficie y causar **hemólisis intravascular**. Los glóbulos rojos que escapan a la hemólisis dan la prueba de **Coombs directo positivo** debido a presencia de **IgG y complemento**. Pero más frecuentemente, sólo el complemento se puede demostrar en el glóbulo rojo debido a que el complejo inmune sobre la membrana no está adherido firmemente, se disocia fácilmente después de activar el complemento y se moviliza hacia otras células.<sup>5,6,12</sup>

Esto puede explicar por que pequeñas cantidades de complejo inmune droga-antidroga puede conducir a una reacción hemolítica aguda, aunque se ha señalado que múltiples drogas pueden causar anemia hemolítica por el mecanismo descrito, sin embargo, los casos publicados no son tan frecuentes<sup>5</sup>.

#### **Hallazgos clínicos y de laboratorio.**

1. Una vez que se han formado los anticuerpos, el paciente puede presentar hemólisis aún tomando pequeñas cantidades de droga (alfa metildopa, levadopa, quimidina, quinina, rifampicina, sulfonamidas, fenacetina, etc.).
2. La reacción hemolítica es de tipo intravascular, cursando con hemoglobinemia. Hemoglobinuria y aproximadamente un 50% de los casos producen insuficiencia renal.
3. El anticuerpo antidroga formado puede ser de la clase IgM o IgG.
4. La prueba de Coombs directo positiva es debida a la presencia del complemento ( ya que los eritrocitos a menudo solo están recubiertos por C3).
5. La sensibilización se puede demostrar *in vitro*, cuando se incuban conjuntamente el suero del paciente, la droga (necesariamente debe estar presente) y glóbulos rojos. La reacción se visualizará bajo la forma de aglutinación, hemólisis y/o prueba de Coombs directo positiva.

## 2.- MECANISMO DE ADSORCION DE DROGAS.

La penicilina es el prototipo de este mecanismo, la cual se une firmemente a los glóbulos rojos reaccionando con proteínas de la membrana para formar grupos hapténicos diferentes. El mayor de estos determinantes hapténicos es el grupo Benzylpeniciloil (BPO). El mecanismo de sensibilización por penicilina es el siguiente: La droga se adsorbe sobre los eritrocitos y ambos forman un complejo que estimula el aparato inmunológico, produciéndose el anticuerpo de la clase IgG antipenicilina. El producto final es un complejo de Glóbulos Rojos-Penicilina sensibilizado con anti-antipenicilina de la Clase IgG. El complemento no está involucrado en esta reacción y por consiguiente no existe hemólisis intravascular, aunque puede presentarse sensibilización por este, pero es rara.<sup>5,6,12,13</sup>

Los eritrocitos son destruidos por el sistema retículo endotelial por lo que la hemólisis es extravascular.

Con técnicas suficientemente sensibles se pueden detectar anticuerpos antipenicilina de la clase IgM e IgG aún en bajos niveles.<sup>5,7</sup>

### Los hallazgos clínicos y de laboratorio.

1. Prueba de Coombs directa es fuertemente positiva, como resultado de la sensibilización de los glóbulos rojos por IgG y ocasionalmente, puede haber sensibilización por complemento, aunque normalmente es muy débil.
2. En el suero del paciente, existe un título elevado de anticuerpos IgG antipenicilina.
3. La hemólisis sólo se presenta en pacientes que reciben grandes dosis de penicilina en el orden de 20 millones por día durante una semana. La hemólisis en su inicio es **sub-águda**, pero puede agudizarse y hacerse fatal si no se reconoce a tiempo su etiología y se continúa la administración del antibiótico.
4. Al suspender la medicación sobreviene la recuperación completa, sin embargo, puede persistir un grado de hemólisis subclínica.
5. El anticuerpo eluido de los glóbulos rojos reacciona con células rojas cubiertas con penicilina, pero no con las normales.

Este aspecto es muy importante para el personal del banco de sangre, quien debe sospechar que la eritrosensibilización es producida por drogas, especialmente si no se han detectado anticuerpos irregulares en el suero del paciente<sup>5</sup>.

### 3.- MODIFICACION DE LA MEMBRANA POR EFECTO DE DROGAS.

En la actualidad se conoce que las drogas del grupo de las cefalosporinas pueden alterar la membrana de los eritrocitos en tal forma que varias proteínas séricas se pueden adsorber de manera inespecífica sobre ella. Así, se ha demostrado que los glóbulos rojos tratados con cefalosporinas e incubados con plasma normal o suero, adsorben albúmina, IgG, IgA, IgM, alfa y beta, globulinas, entre ellos el complemento. Cuando esto se produce *in vivo* da lugar a una prueba de coombs directa positiva. Se han propuesto tres mecanismos para explicar la positividad de la prueba de Coombs debido al efecto de la cefalosporina y sus derivados.<sup>5,6,12</sup>

1. La membrana del eritrocito es modificada por la droga y se presenta una adsorción no inmunológica de proteínas, reaccionando con todos antisueros frente a cualquier proteína sérica humana, no sólo con la anti IgG o anti C3.
2. La droga se combina con la membrana en forma similar a como lo hace la penicilina reaccionando en forma específica con anticuerpos **anticefolotina**.
3. La droga se combina igualmente con la membrana pero reacciona en forma cruzada con anticuerpos **antipenicilina**, ya que existe estrecha relación química en ambos compuestos.

#### **Hallazgos clínicos y de laboratorio.**

Se ha señalado que en los casos en el que el Coombs directo fue positivo, la dosis de cefalosporina administrada fue de 7g diarios por 10 días. Aproximadamente el 4% de los pacientes que reciben **cefalotinas** desarrollan un Coombs directo positivo.<sup>7</sup>

El tratamiento con cefalosporinas y sus derivados tales como: cefotoxina, cefalexima, cefaloridina y cefalocina, sugiere que la causa es un mecanismo inmune que envuelve la formación de anticuerpos específicos.

Los anticuerpos anticefalosporinas pueden tener una reactividad cruzada con eritrocitos tratados con penicilina.<sup>7</sup>

Nuevas generaciones de cefalosporinas se han asociado con hemólisis inmune severas.

#### 4.- FORMACION DE ANTICUERPOS INDUCIDOS POR DROGAS.

Después del tratamiento con alfa metildopa, se forman anticuerpos que reaccionan con antígenos intrínsecos eritrocitarios, que han sido alterados por la droga de modo que el sistema inmune ya no lo reconoce como propio. Esta reacción es diferente a otros tipos ya descritos, en el sentido de que dicha droga induce a la formación de anticuerpos los cuales reaccionan directamente con los eritrocitos normales aun en ausencia de esta. La droga ejerce un efecto directo sobre los linfocitos T conduciendo a la pérdida de su función supresora, permitiendo que los linfocitos B sobre produzcan anticuerpos.

Esta hipótesis requiere de mayor investigación para comprobar los hallazgos preliminares, pero sus conclusiones son consistentes con las teorías modernas concernientes con los mecanismos de desarrollo de autoanticuerpos en las enfermedades autoinmunes.<sup>5,6,12</sup>

##### Hallazgos clínicos y de laboratorio.

1. La prueba de **Coombs directa** se toma positiva solo después 3 a 6 meses de tratamiento, entre 10 y el 36% de los pacientes.
2. El desarrollo de la prueba de **Coombs directo positivo**, parece ser dosis-dependiente. Como se observa en los siguientes datos.<sup>5</sup>

% PACIENTE con coombs directo positivo	DROGA DOSIS POR DIA
36	3G
19	1-2G
11	1G

3. Aproximadamente **0.5 al 1.0%** de los pacientes que reciben Metildopa desarrollan anemia hemolítica.
4. Los glóbulos rojos están generalmente sensibilizados con IgG pero ocasionalmente pueden detectarse pequeñas cantidades de complemento.
5. (**Coombs directo es positivo** debido a IgG y raramente con Anti-C<sub>3</sub> .
6. Los anticuerpos en el eluido y en el suero que provienen de los eritrocitos del paciente y son similares a los que se detectan en otros casos de A.H.A.I.A.C.
7. La anemia se desarrolla gradualmente; no se ha descrito hemólisis intravascular.

8. Después de suspender la droga, los síntomas y pruebas de laboratorio que demuestran la presencia de hemólisis se hacen progresivamente más débiles, mejorando generalmente en el lapso de unas pocas semanas, aunque en raras ocasiones pasan entre 10 semanas y 6 meses para que la hemoglobina llegue a su nivel normal. Los anticuerpos desaparecen del suero pero el Coombs directo positivo puede tomar hasta 2 años o más para ser negativo completamente.<sup>7</sup>

Resultados de Coombs directo positivo en mecanismos de inducción por droga.<sup>6</sup>

Mecanismo	Poliespecífico	Anti-IgG	Anti-C3	Suero	Eluido
Complejos inmunes	+	0*	+	Pruebas de escrutamiento de Ac. Neg Anticuerpos demostrados en suero, complemento, y glóbulos rojos incubados con droga	Anticuerpos no demostrables en presencia de droga
Adsorción de drogas	+	+	0*	Pruebas de escrutamiento de anticuerpos negativos Anticuerpos con título alto demostrables en suero probado con eritrocitos cubiertos con droga.	Anticuerpos demostrables usando glóbulos rojos cubiertos con droga.
Modificación de la membrana	+	+	+	Pruebas de escrutamiento de anticuerpos negativos por mecanismo no inmunológico	
Formación de autoanticuerpos	+	+	0*	Autoanticuerpos reactivos con eritrocitos normales que pueden o no estar presentes.	Eluido reactivo con glóbulos rojos normales.

0\* Puede ocasionalmente ser positivo.]

## 5.- TEORIA DE LA RESPUESTA INMUNE Y ANTICUERPOS FÁRMACO- DEPENDIENTES

Durante muchos años los Coombs directos positivos asociados con drogas fueron clasificados por los mecanismos antes mencionados. Esta clasificación ha sido útil por 30 décadas. Pero ahora ha surgido una nueva teoría a raíz de que en muchos casos no se podía demostrar el mecanismo de inducción, o bien que la droga implica mas de un mecanismo.

La incidencia en la ultima década da origen a nuevas teorías, las cuales tienden a un enfoque más amplio aplicable a todas las drogas, dando lugar a diferentes manifestaciones. Las cuales proponen que las drogas inducen a la formación de anticuerpos, en base a su capacidad de interactuar con componentes específicos de la membrana celular, alterando así los componentes normales de forma que no son reconocidos como propios<sup>32,33</sup>

Produciendo una nueva configuración o Neoantígeno provocando una respuesta inmune policlonal que puede reconocer por lo menos 3 tipos de epítopos.<sup>32,33</sup>

1. Algunos reaccionan esencialmente con la droga.
2. Otros con la droga y la estructura de la membrana celular.
3. Y otros esencialmente con los componentes de la membrana celular.

Siendo estos puntos el blanco del anticuerpo una vez formado. Las técnicas siguen siendo las mismas ya que la clasificación depende en gran parte de la capacidad de fijación *in vitro* de la droga implicada, a los eritrocitos<sup>32,33</sup>

### Algunas Drogas que pueden inducir anticuerpos droga-independiente. (autoanticuerpos).

Alfa-Metildopa	Cianidanol*	Levadopa
Azopropazona*	Clorpramazina	Acido mefenámico
Carbimazol*	Ciclofenil	Nomifensina*
Catergeno	Diclofenac*	Fenacetina*
Cefotetan*	Fenfluramina	Procainamida
Cefoxítina*	Glafenina*	Estreptomicina*
Chaparral	Ibuprofeno	Teniposida*
Hidrocarburos dorados*	Latamoxel*	Tolmetina*

\* Estas drogas pueden inducir también anticuerpos droga dependiente.

**DROGAS Y MECANISMOS QUE DAN COOMBS DIRECTO POSITIVO Y ALGUNAS VECES LAS AHAI.<sup>7</sup>**

<b>Mecanismos</b>		
<b>Autoanticuerpo</b>	<b>Absorción de droga</b>	<b>Modificación de membrana</b>
Metildopa	Penicilina	Cefalosporinas
Levadopa	Cefalosporina	
Acido Mefanímico	Carbromal	
Procanaimida	Eritromicina	
Ibuprofen		

<b>Complejos Inmunes</b>		
<b>Autoanticuerpo</b>	<b>Absorción de droga</b>	<b>Aún no definido</b>
Estibofin	Sulfamidas	
Quinina	Piramidón	Methysergide
Quimidina	Dipirona	Hidralazine
Ac. Para amino		Dialdehido
Fenacetin	Insulina	Ciplatin
Hidrocarburos clorinados	Acetoaminofén	Metotrexade
Antihistamínicos		Podofilotoxín
Isoniacida	Triamterene	Zomepirac
Clorpromaxina	9-Hidroxi metileleptinium	Tolmetin
Derivados sulfonilurea	Pentotal sódico	Furosemda
Rifampicina		Metabolito butizide
Hidroclotiazida		
Estreptomina		
Tetraciclina		

**Mecanismo Hemolítico**

Se ha demostrado que existen dos formas de destrucción inmune de los eritrocitos: intravascular y extravascular.

**La destrucción intravascular.-** Este tipo de destrucción inmune es mediada por el complemento. La destrucción intravascular no es frecuente en la anemia hemolítica autoinmune y cuando ocurre, generalmente está asociada con la hemoglobina paroxística a frío, menos frecuente con el síndrome de anticuerpos fríos y en muy raros casos, secundaria al efecto de las drogas.<sup>5</sup>

Debido a la formación de anticuerpos autoinmunes ocasionalmente puede presentarse cuando son por anticuerpos calientes.

La hemólisis mediada por el complemento generalmente sigue la vía de activación clásica, ésta puede ser desencadenada por anticuerpos de las clases IgG e IgM. Solamente tres de las subclases IgG activan el complemento IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> e IgG<sub>3</sub>.<sup>5</sup>

Una simple molécula de IgM es necesaria para activar el primer componente del complemento, en cambio, se requiere un par de moléculas de IgG situadas muy próximas, entre 200 a 400 Å aproximadamente.

El resultado final de la activación del complemento, será la lesión de la membrana, con la salida de la Hemoglobina al plasma (hemoglobinemia), la cual se combina rápidamente con la haptoglobina para formar un complejo que es eliminado en pocas horas en el sistema reticuloendotelial.

Cuando el sistema de haptoglobina está saturado, el exceso de hemoglobina se oxida y se une a la albúmina para formar metahemalbúmina, tanto el complejo de haptoglobina-hemaglobina como la metahemalbúmina son destruidos en el sistema reticuloendotelial para formar bilirubina, cuya máxima concentración se alcanza en el plasma entre 3 y 6 horas después del episodio hemolítico<sup>5</sup>.

**Destrucción extravascular.**- Si los eritrocitos están sensibilizados con IgG o con componentes del complemento que no han alcanzado la activación total de la cascada para causar la lisis, también pueden ser destruidos o lesionados por las células del sistema reticuloendotelial. Este sistema tiene tal capacidad destructiva, que puede hemolizar hasta cerca de 400 ml de glóbulos rojos por día<sup>5</sup>.

Se piensa que los eritrocitos sensibilizados son destruidos dentro del sistema reticuloendotelial por interacción con los fagocitos mononucleares, de los cuales, el más importante que participa en este fenómeno de destrucción es el macrófago<sup>5</sup>.

El resultado final es que el eritrocito sensibilizado puede ser fagocitado completamente por el macrófago y destruido en su interior o puede ser mordido con pérdida de una porción. El resto del glóbulo rojo que escapa a la fagocitosis cierra su membrana y circula, adoptando la forma de esferocito. La membrana de este esferocito es rígida debido a la pérdida de lípidos y proteínas, la célula pierde su capacidad de cambiar de aspecto rápidamente en el momento de pasar a través de los finos canales del bazo y en consecuencia es destruida precozmente.

La destrucción extravascular de los glóbulos rojos conduce a la aparición en el plasma y la orina de productos resultantes del catabolismo de la hemoglobina tales como bilirubina y urobilinógeno. Ocasionalmente pueden detectarse hemoglobinemia y hemoglobinuria aun cuando no haya mediación de complemento.

#### IV.- INCIDENCIA

En 1967 por primera vez fue reportada la prueba de Coombs directo positivo causado por cefalosporinas de primera generación por Ogburn y Garranty siendo muy pocos los casos con AHID.

Desde 1985 se han reportado 49 casos con hemólisis inmune relacionadas con la aparición de las cefalosporina de segunda y tercera generación de las cuales se han reportado 16 pacientes con desenlaces fatales donde las mujeres son más susceptibles que los hombres<sup>26</sup>.

Los fármacos asociados son:<sup>26</sup>

Cefotetán (Zeneca Pharmaceuticals, Wilmington, DE) - 9 casos.

Cefoxitin (Mefoxin, Merck and Co., West Point, PA) - 1 caso.

Ceftriaxone tercera generación (Rocephin, Roche Products, Inc., Nutley, N) – 6 casos.

2 casos no fatales pero clínicamente significativos<sup>26</sup>

Ceftizoxime (tercera generación) (Ceftizox, Feyisawa, USA, Inc. Deerfield) – 2 casos.

1 caso clínicamente significativo<sup>30</sup>

Cefotetán y Cefalexime dando lugar a una reacción hemolítica por dos mecanismos diferentes por complejo inmune (hemólisis intravascular) y por adsorción de drogas (hemólisis extravascular)

**La anemia hemolítica relacionada con cefalosporinas de segunda y tercera generación.**

Se ha reportado que sucede por tres mecanismos:<sup>26</sup>

1. Adsorción de la droga (D.A.).
2. El mecanismo llamado de Complejos Inmunes (IC) (fue el mecanismo descrito inicialmente con cefotaxime).
3. Autoanticuerpos independientes de la droga

**Varias combinaciones han sido registradas**

Nueve reportes de desenlace fatal relacionados con cefalosporinas de tercera generación y hemolisis inmune intravascular de los cuales se sacan los siguientes datos:

Casos	Mecanismos.
4	Presentaron complejos inmunes solamente
1	Tuvo adsorción de drogas (cefaxitin)
3	Tuvieron adsorción de drogas y complejo inmune
1	Tuvo los 3 mecanismos: adsorción de drogas, complejo inmune y autoanticuerpos independientes de la droga

Los dos casos estudiados presentaron reacción solamente con complejos inmunes, sin presentar hemólisis intravascular como se esperaría. (sólo se observó extravascular).<sup>26</sup>

De 26 reportes, cinco son pediátricos, entre los 2 y los 14 años.

Un caso de un niño de 21 meses de edad es estudiado donde desarrolla H.H.I.D. con Cefaclor, Cefaxime, Cefotaxime por dos mecanismos diferentes. Uno por complejos inmunes y adsorción de la droga dándose primero una hemólisis intravascular y la segunda una hemólisis extravascular.<sup>31</sup>

Un caso similar fue reportado por Chamber E. Y Schuman E. En 1989 y 1990.<sup>31</sup>

#### **Anemia hemolítica relacionada con los anti-inflamatorios no esteroidales.**

En 1997, Bougie D, Jonson ST. reportaron un caso de anemia hemolítica inducida por metabolitos de Diclofenac.<sup>17</sup>

Un caso similar de anemia hemolítica causado por Diclofenac y sus metabolitos, se presenta en un hombre de 57 años desarrollado por un mecanismo de complejos inmunes y manifestándose una hemólisis intravascular severa.<sup>17</sup>

Otro caso de anemia hemolítica causada por los metabolitos de Etodolac un anti-inflamatorio no esteroide, se presento en una mujer de 41 años que curso también con daño renal severo.<sup>28</sup>

## V. PRUEBAS DE LABORATORIO

### **Investigación de anticuerpos contra drogas**

Ya hemos señalado que las drogas, por diferentes mecanismos conducen a la autosensibilización de los glóbulos rojos siendo el Coombs directo positivo, la primera evidencia y la más frecuentemente encontrada. El Coombs indirecto es usualmente negativo con la gran mayoría, a excepción del grupo de drogas de la metildopa, las cuales causan problemas que son muy similares a la anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes.<sup>5,7</sup>

La evaluación serológica de un paciente que presenta la prueba de Coombs directa y/o indirecta positiva, es básicamente la misma que se usa para investigar la AHAI<sup>5</sup>.

Los reactivos de antiglobulina mono-específicos son muy útiles para demostrar el tipo de proteína unida a la membrana celular, la cual puede variar según el caso. Por ejemplo, en el caso del mecanismo por complejos inmunes, generalmente fijan complemento; en cambio, con penicilina y la metildopa, usualmente está presente la IgG<sup>5</sup>.

El suero del paciente debe ser estudiado según los procedimientos normales empleados en la determinación de alo y autoanticuerpos. Si no hay aglutinación de las células normales, éstas deben tratarse con la droga que el paciente está tomando. Es igualmente importante obtener un eluido de los glóbulos rojos del paciente, el cual se debe probar con células normales y células tratadas con la droga. Esta prueba tiene gran significado en el caso de la sensibilización por penicilina, pero no da ninguna información cuando se trata de inmunocomplejos, porque en estas condiciones el glóbulo rojo está sensibilizado solo con complemento y el eluido no presenta actividad.<sup>5,7</sup>

### **Detección de anticuerpos anti-penicilina y anti-cefalotina<sup>7</sup>**

El estudio de una prueba de antiglobulina directa positiva inducida por fármacos asociada a un tratamiento con penicilina o cefalosporinas.

#### ***Preparación de los glóbulos rojos sensibilizados con penicilina.***

1. Lavar 3 veces con salina un volumen de glóbulos rojos de grupo "O" preferiblemente frescos.
2. Preparar una solución de penicilina de  $1 \times 10^6$  unidades: aproximadamente 600mg de K-bencil penicilina G se disuelve en 15ml de buffer BBS a pH de 9.6 a 10.
3. Agregar 1 ml del paquete de glóbulos rojos lavados, a la solución de penicilina y mezclar.
4. Incubar a temperatura ambiente durante 1 hora, mezclando periódicamente.
- 5.-Lavar las células 3 veces con salina. y conservarse en sol. de alsever a 4°C

### **Preparación de células sensibilizadas con cefalotina.<sup>7</sup>**

1. Lavar 3 veces con salina un volumen de glóbulos rojos de grupo O, preferiblemente frescos.
2. Preparar una solución de cefalotina sódica disolviendo 400mg de Keflin en 10ml de buffer BBS.
3. Agregar 1 ml. del paquete de glóbulos rojos a la solución de cefalorina y mezclar.
4. Incubar a 37°C durante dos horas, mezclando periódicamente.
5. Lavar los glóbulos 3 veces con salina y guardar en solución de alsever a 4°C.

### **Técnica para el estudio del suero ó eluido del problema.<sup>7</sup>**

1. Identificar dos tubos de 10 ó 12 x 75 mm "tratados" y "normales".
2. Colocar en cada tubo 2 o 3 gotas del suero ó eluido del paciente. diluir el suero 1:20 en solución salina para las pruebas con eritrocitos cubiertos.
3. En el tubo identificado como "tratado", agregar 1 gota de los glóbulos rojos recubiertos de farmaco, suspendidos en salina al 5%.
4. En el tubo identificado como "normal", agregar 1 gota de los mismos glóbulos rojos pero no recubiertos, suspendidos al 5%.
5. Mezclar e incubar ambos tubos a temperatura ambiente, durante 15 minutos.
6. Centrifugar y examinar macroscopicamente la presencia de aglutinación en los eritrocitos.
7. Incubar los mismos tubos a 37°C durante 30 a 60 minutos.
8. Centrifugar y examinar macroscopicamente la presencia de aglutinación en los eritrocitos y anotar los resultados.
9. Lavar 4 veces los eritrocitos con solución salina para la prueba de antiglobulina indirecta, utilizando reactivo de antiglobulina poliespecífica o anti IgG. Leer y anotar los resultados.

### **Notas .**

Este procedimiento se emplea para la investigación de anticuerpos anti-penicilina tanto en el suero como en el eluido. Si el Coombs directo del paciente está positivo, se prepara un eluido por las técnicas convencionales y se procesa en igual forma<sup>5</sup>.

Los anticuerpos IgM anti-penicilina pueden aglutinar los glóbulos rojos tratados pero no los normales, en la fase de incubación en salina. Igual comportamiento muestran los anticuerpos IgG en la fase de antiglobulina<sup>5</sup>.

Para la investigación de anticuerpos anti-cefalotina, se usa la misma técnica que para la penicilina con una modificación: la incubación del suero se hace solamente a 37°C durante 15 minutos, para prevenir la fijación de IgG inespecífica del suero<sup>5</sup>.

En ambos procedimientos puede titularse la potencia del anticuerpo haciendo diluciones seriadas del suero o del eluido.<sup>5</sup>

## **Investigación de anticuerpos contra drogas que reaccionan por el mecanismo de complejos inmunes.<sup>7</sup>**

Los inmunocomplejos formados entre ciertos fármacos y sus anticuerpos respectivos se unen débilmente y de forma inespecífica a los eritrocitos. Los inmunocomplejos activan el complemento, lo que puede dar lugar a hemólisis

*in vivo*. Este procedimiento es un medio *in vitro* para demostrar la formación de inmunocomplejos asociados a las interacciones fármaco-antifármaco.

1. Preparar una solución de la droga en buffer de salina taponada de fosfatos (PBS. pH 7,0-7,4), empleando aproximadamente 1 mg de la droga (en la misma forma del fármaco problema; comprimido, solución, cápsula) x 1 ml de buffer. Si se trata de tabletas, éstas se deben triturar en un mortero. Incubar a 37°C hasta que la droga se haya disuelto suficientemente. Puede agitarse fuertemente para acelerar el proceso. La mayoría de las drogas no se disuelven completamente pero el sobrenadante contiene suficiente droga para reaccionar.
2. Centrifugar y obtener el sobrenadante claro. Ajustar el pH de la solución a 7.0 con NaOH o HCl 1 N. aproximadamente. Suero normal fresco, con certeza de carecer de anticuerpos irregulares, como fuente de complemento preferentemente del grupo AB.
3. Reactivos de glóbulos rojos del grupo "O", tratados y no tratados con una enzima proteolítica (fiscina).
4. El suero del paciente.

### **Método:**

5. Identificar dos series de tubos en la siguiente forma; y depositar 0.2 ml. de cada reactante, preparar las siguientes mezclas y estudiar
  - a) Suero del paciente + droga
  - b) Suero del paciente + buffer PBS
  - c) Suero del paciente + complemento (suero normal) + droga
  - d) Suero del paciente + complemento ( suero normal) + buffer PBS
  - e) Droga + complemento (suero normal)
6. En una de las series de tubos, agregar una gota de glóbulos rojos normales, de grupo "O", en concentración del 5%. En la otra serie, agregar una gota de glóbulos rojos O tratados con enzima, en suspensión del 5 %.
7. Incubar ambas series de tubos a 37°C durante 1 a 2 horas, mezclando periódicamente.
8. Centrifugar y observar hemólisis o aglutinación.
9. Lavar las células 4 veces con solución salina y añadir reactivo antiglobulina poliespecífico.
10. Centrifugar, leer y anotar los resultados.

### **Interpretación**

Puede observarse hemólisis, aglutinación ó recubrimiento . Esta reactividad en cualquiera de las pruebas conteniendo suero del paciente al que se añadió fármaco, y la ausencia de esta reactividad en la prueba control correspondiente con PBS en lugar del fármaco, indica una interpretación fármaco- antifármaco.

Si la droga en cuestión está envuelta en el proceso hemolítico los resultados serán como se exponen en el siguiente cuadro: <sup>7</sup>

<i>Mezcla</i>	<i>Resultado</i>
SP + droga	Positivo
SP + Buffer PBS	Negativo
SP + SN + droga	Positivo
SP + SN + Buffer PBS	Negativo
SN + droga	Negativo

### **Demostración EX VIVO de complejos fármaco/antifármaco<sup>7</sup>**

#### Principio.

Los complejos inmunes fármaco/antifármaco pueden activar el complemento y causar hemólisis *in vivo*. Estos inmunocomplejos pueden ser demostrables por pruebas serológicas en presencia de la droga, pero con algunos agentes (especialmente nomifensina), los anticuerpos se dirigen contra metabolitos de la droga y no contra el fármaco nativo. Se puede utilizar suero y/u orina de voluntarios que han ingerido lo niveles terapéuticos de la droga como fuente de estos metabolitos.

Este procedimiento se utiliza para investigar la hemólisis inmune asociada con fármacos, particularmente cuando el uso de los métodos precedentes no ha sido informativo.

#### **Reactivos**

1. Reactivo antiglobulina humana (AGH) poliespecífica.
2. Metabolitos de fármacos de receptores voluntarios.
  - a) Suero separado a 37° de sangre coagulada a la misma temperatura. Obtener las muestras inmediatamente antes (VS<sub>0</sub>) y a la hora (VS<sub>1</sub>) y a las 6 horas (VS<sub>6</sub>) de la administración de la droga. Dividir el suero en alícuotas de 1mL y almacenar a 1-6°C durante algunas horas o a -20°C o menos hasta su uso.
  - b) Orina obtenida inmediatamente antes (VU<sub>0</sub>), a la hora (VU<sub>1</sub>), 3.5 horas (VU<sub>3.5</sub>), 7horas (VU<sub>7</sub>) y 16 horas (VU<sub>16</sub>) de la administración de la droga.
  - c) Dividir en alícuotas de 1mL y almacenar a 1-6°C durante algunas horas o a -20°C o menos hasta su uso.

3. Suero humano normal recién recogido, que carezca de anticuerpos irregulares como fuente de complemento.
4. PBS a pH 7,3.
5. Eritrocitos testigos de grupo <O> lavados tres veces con solución salina y resuspendidos hasta una concentración del 5% en PBS.
6. Pool de eritrocitos grupo <O> tratados con ficina, (suspensión al 5% en PBS).
7. Suero problema, separado a 37°C de sangre coagulada a la misma temperatura.

#### **Método.**

1. Para cada muestra de suero (VS) y/u orina (VU) recogida de receptores voluntarios de la droga, preparar dos grupos de las siguientes mezclas de prueba; utilizando volúmenes de 0,1mL de cada reactivo:
  - a) Suero problema + VS (o VU)
  - b) Suero problema + VS (o VU) + complemento
  - c) Complemento + VS (o VU)
2. Utilizando volúmenes de 0,1mL, preparar tubos control dobles de:
  - a) Suero problema + PBS
  - b) Suero problema + complemento
  - c) Complemento + PBS
3. A un conjunto de mezclas en estudio y tubos controles, agregar 1 gota de eritrocitos no tratados.
4. Al otro conjunto de mezclas en estudio y tubo controles, agregar 1 gota de eritrocitos tratados con ficina.
5. Agitar el contenido de cada tubo e incubar a 37°C durante 1 ó 2 horas, con agitación periódica.
6. Centrifugar a 900-1,000 xg durante 10-20 segundos, examinar macroscópicamente en busca de aglutinación, clasificar y registrar los resultados.
7. Lavar las células cuatro veces con solución salina y decantar completamente el líquido sobrendante final.
8. Agregar AGH poliespecífica según las instrucciones del fabricante
9. Centrifugar a 900-1,000 xg durante 10-20 segundos, examinar macroscópicamente las células, y clasificar y registrar los resultados.

#### **Interpretación.**

La hemólisis, la aglutinación directa o la positividad con AGH indican reactividad. La reactividad en cualquiera de los tubos que contienen suero de prueba y VS o VU, y la ausencia de reactividad en todos los tubos controles indica la presencia de anticuerpos contra un metabolito de la droga en cuestión.

## Observaciones

1. El complemento puede ser omitido en el paso 1b, siempre que las muestras VS se hayan mantenido en hielo y se utilicen para el examen dentro de las 8 horas de recogidas.
2. Los tiempos de recolección de las muestras datos son los óptimos para los anticuerpos contra metabolitos de nomifensina; pueden ser necesarios diferentes tiempos de recolección para otros fármacos.
3. Se debe obtener la aprobación del comité de ética de la institución para recurrir a voluntarios con el objeto de obtener metabolitos de los fármacos.

## PRUEBA DE COOMBS.

La prueba de la anti-gamaglobulina humana o de Coombs es el principal instrumento que se utiliza para diagnosticar la hemólisis autoinmunitaria. Esta prueba se basa en la capacidad de los anticuerpos específicos dirigidos contra las inmunoglobulinas (IgG especialmente) o los factores del complemento (C3 particularmente) para aglutinar a los hematíes cuando estas inmunoproteínas del suero humano se encuentran en la superficie de los hematíes. En la prueba de Coombs directa se determina la capacidad de los antisueros anti-IgG o anti-C3 para aglutinar a los hematíes del paciente. La presencia o ausencia de IgG, de C3, o de ambos, puede dar información importante sobre el origen de la anemia hemolítica autoinmunitaria (véase Cuadro ) Raras veces no se encuentran IgG ni complemento en los hematíes del paciente (anemia hemolítica inmunitaria Coombs-negativa).<sup>4,6</sup>

Empleo de la prueba de Coombs directa en el diagnóstico etiológico de la anemia hemolítica autoinmune<sup>4</sup>

Reacción con		Causas
Anti-IgG	Anti-C3	
Sí	No	Anticuerpos a las proteínas del Rh, hemólisis producida por $\alpha$ -metildopa o penicilina.
Sí	Sí	Anticuerpos con los antígenos de glucoproteínas, LES
No	No	Anticuerpos que reaccionan en frío (aglutininas o anticuerpo de Donath-Landsteiner), la mayoría de los anticuerpos relacionados con los fármacos, anticuerpos de tipo IgM, anticuerpos IgG de baja afinidad, activación del complemento por inmunocomplejos

## CONCLUSIONES

Los casos reportados de anemias hemolíticas inducidas por drogas, van en aumento en forma paralela a la administración de cefalosporinas de segunda y tercera generación, por ser de las de más aplicación para combatir infecciones de una manera más rápida, lo que ha ocasionado en varios casos su uso indiscriminado

Se encontró que aproximadamente del 3% al 12% de los pacientes a los que se les había administrado penicilina o cefalosporinas, desarrollan una prueba de Coombs directa positiva, así también se observó que cuando los pacientes producen anticuerpos contra la droga y estos complejos se adhieren a los eritrocitos, existe la posibilidad de que se manifieste una anemia hemolítica.

También se observó que existen poblaciones de pacientes más sensibles que otros, como son: niños, ancianos y pacientes con deficiencias hematológicas en los eritrocitos, que pueden ser: deficiencias de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa, insuficiencia hepática y alteraciones en la membrana eritrocitaria, por todo lo mencionado, estas poblaciones son más sensibles a desarrollar anemia hemolítica inducida por las drogas mencionadas.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

## BIBLIOGRAFIA

1. Claude A. Villee. Biología. McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. (1996). Octava edición. Cap.16: Pág. 341, 342, 343; Cap. 21pág. 432
2. Carrillo Farga J. Hematología. (1991). McGraw-Hill Interamericana. Segunda edición. Pág. 12, 13.
3. Ketton J.G. Heddle. Nancy M., Blajehman Morris A. Transfusión sanguínea; Ediciones Doyna. Pág. 1-5
4. Harrison P.R. Principios de Medicina Interna. McGraw Hill Interamericana, S.A. (1998, España). 14ª. Edición. Pág. 153 a 766.
5. Linares G., J. Inmunoematología y Transfusión. Principios y Procedimientos. (1982). Pág. 242-246.
6. Harmening D.M. Modern Blood Banking and Transfusion Practices. (1994, Philadelphia). 3rd. Edition F.A. Davis Company. Pág. 414-425.
7. Walke, MD Richard H. Manual Technical American Association of Blood Banks. Editorial Pecaló. (1996). Pág. 707-713; 392-379.
8. Carranza R.R. Vademécum académico de medicamentos. Tomo I y II Texto Universitario U.N.A.M. (1984)
9. Paul Noone. Terapia con Antibióticos. Ediciones P.L.M.S.A. Fascículo # 5. (1982). 1er. Edición en español. Pág. 112 a 128.
10. Prencipe L., Bremas S. Equilibrio Ácido-Básico. Aspectos Teóricos Prácticos. Editorial IZASA S:A Italia. 1992 pág. 24-26.
11. Wintrobe M. M. Hematología Clínica. Editorial intermédica. (1969). 3ra. Edición en español. P.p.493-495
12. Roitt, Brostoff, Male. Inmunología. Ediciones Harcourt, S.A. (2000).5ta. Edición en español. P.p. 320,324,325.
13. Rapaport. S.I. Introducción a la Hematología. Editorial Salvat S:A. 1994.Barcelona -España. Pág.88-97
14. Mascaró y Porcar. Diccionario terminológico de ciencias médicas. Undécima edición. Salvat Editores. S:A.1983.
15. Wright MS. Drug-induced hemolytic anemia: increasing complications to therapeutic interventions. Clin Lab Sci. 1999, 12.

16. Galembeck E, et. al C. Effects of polyoxyethylene chain length on erythrocyte hemolytic induced by poly[oxyethylene (n) nonylphenol] non-ionic surfactants. *Chem Biol interact* (1998) May
17. De Quiroz JF, et. al . Immune complex-mediated hemolytic anemia and Evans syndrome induced by diclofenac. *Vox Sang* 1997.
18. Patton WN., Duffull SB.. Idiosyncratic drug-induced hematological abnormalities, incidence, pathogenesis, management and avoidance. *Drug Saf* 1994, 11 Dec.
19. Kudoh T, Nagata N, et. al. Minocycline-induced hemolytic anemia. *Acta Paediatr Jpn*, 1994 Dec.
20. Wright RO, Perry HE. et.al. Hemolysis after acetaminophen overdose in a patient with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *J Toxicol Clin Toxicol*, 1996.Oct
21. DiGiuseppe JA, Bastacky SI, et. al. Tacrolimus-related post transplant lymphoproliferative disorder presenting as autoimmune hemolytic anemia. *Arch Pathol Lab Med* 1996, Mar .
22. T, Imai K. et. al. Drug induced hemolytic anemia associated with agranulocytosis. 1996.
23. Satoh S, Takahashi T, et.al.. Ceftizoxime-induced hemolysis due to immune complexes: case report and determination of the epitope responsible for immune complex-mediated hemolysis. *Transfusion*, 1999 .
24. Morimoto Y, et.al . *Biol Pharm Bull*, Protective effects of neutral amino acids against amphipathic drug-induced hemolysis. 1995 Nov.
25. C.P. Engelfriet H.W. Reesink. The Detection of Alloantibodies against Red Cells in Patients with Warm-Type Autoimmune Haemolytic Anemia. 1998.
26. Shammo JM, Calhoun B, et.al. First two cases of immune hemolytic anemia associated with ceftizoxime. *Transfusion* . Aug 1999.
27. Wright MS. Drug-induced hemolytic anemias: increasing complications to therapeutic intervention. *Clin Lab Sci*, 1999 .
28. Cunha PD, Lord RS. Et.al. Immune hemolytic anemia caused by sensitivity to a metabolite of etodolac, a nonst anti-inflammatory drug. *Transfusion*, Jun 2000.
29. GrrcAa DA, Quiroga S, Perillo MA. Flunitrazepam partitioning into natural membranes increases surface curvature and cellular morphology.1998..

30. Stronced\_D; Procter\_JL; Johnson\_J. Drug-induced hemolysis: cefotetan-dependent hemolytic anemia mimicking an acute intravascular immune transfusion reaction. *Am J Hematol.* 2000.
31. Li Volti, Salvatore. Acute haemolytic anemia after Cephalosporin therapy in a young child. *European J. Haematology* 1999.
32. Salama A, Mueller-Eckhardt C. Immune-mediated blood cell dyscrasias related to drugs. *Semin. Hematology* 1992.
33. Garratty G. (1994) Drugs-induced immune hemolytic anemia. *Immunobiolog transfusion medicine.* New York: Marcel Dekker, 1994.
34. Hornberg JC. Drug-induced Autoimmune Hemolytic Anemia. *Presse Med.* 1999. 28 ,13: 703-8.
35. Aster RH. Can drugs cause autoimmune thrombocytopenic\_purpura. *Semin Hematology.* 2000
- 36.-Ciccoli L, Ferrali M, et.al. Hemolytic drugs aniline and daps on induce iron release in erythrocytes an increase the free iron pool in spleen and liver. *Toxicology Left* 1999.