

# Primera serie de casos reportada en Colombia de la enfermedad por aglutininas frías primaria y secundaria. Experiencia de un centro de referencia en Medellín entre 2010 y 2017

Carlos José Atencia<sup>1</sup>, Catalina Quintero<sup>2</sup>

## RESUMEN

**Introducción:** la enfermedad por aglutininas frías (EAF) es un trastorno hematológico primario o secundario, caracterizado por la anemia hemolítica autoinmune causada por los anticuerpos IgM a bajas temperaturas. Clínicamente, presenta parestesias y acrocianosis inducidos por frío y fiebre, aunque también puede ser asintomática y solo identificarse por alteraciones en el hemograma.

**Objetivo:** describir las manifestaciones clínicas y de laboratorio, las causas primarias y secundarias de la EAF y compararlas con series de casos descritos en la literatura.

**Materiales y métodos:** análisis retrospectivo de datos clínicos de pacientes del Hospital Universitario San Vicente Fundación de Medellín con resultados positivos para aglutininas frías. Dichos análisis se realizaron en el laboratorio de hematología de la Universidad de Antioquia, consideramos como positivo título  $\geq 1:64$  o con la prueba de Coombs directa y positiva para anticuerpos fríos.

**Resultados:** se incluyen los títulos de crioaglutininas de 23 casos con EAF: 6 formas primarias, 4 asociadas con los linfoma no Hodgkin (LNH), 8 secundarias a enfermedades infecciosas y autoinmunes y, 5 asociados con enfermedades misceláneas.

**Discusión y conclusiones:** esta es la primera serie de casos en Colombia de EAF. La edad y género fueron similares a los datos reportados en la literatura. Observamos un mayor número de pacientes que presentaban anemia hemolítica y con síntomas asociados al frío. La relación hemoglobina hematocrito fue 1:2. Dentro de las causas secundarias destacamos las vasculitis, el lupus y la malaria. De las causas primarias las más frecuentes fueron los LNH.

---

<sup>1</sup> Profesor asistente Universidad de Antioquia. Internista Hospital Universitario San Vicente Fundación, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Microbióloga y bioanalista, MSc. Profesora. Facultad de Medicina. Laboratorio Integral de Medicina Especializada - LIME Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Correspondencia: Carlos José Atencia; carlos.atencia@udea.edu.co

Recibido: enero 28 de 2019

Aceptado: julio 31 de 2019

Cómo citar: Atencia CJ, Quintero C. Primera serie de casos reportada en Colombia de la enfermedad por aglutininas frías primaria y secundaria. Experiencia de un centro de referencia en Medellín entre 2010 y 2017. *Iatreia*. 2020 Abr-Jul;33(2):123-132. DOI 10.17533/udea.iatreia.40.

específicamente, el linfoplasmodiario. El tratamiento más utilizado para pacientes con EAF primaria incluyó rituximab.

## PALABRAS CLAVE

*Anemia Hemolítica Autoinmune; Enfermedad por Crioagglutininas; Linfoma; Neoplasias Hematológicas; Rituximab*

## SUMMARY

**First case series reported in Colombia of primary and secondary cold agglutinin disease. Experience of a reference center in Medellín between 2010 and 2017**

**Introduction:** Cold agglutinin disease (CAD) is a primary hematologic disorder or can be secondary to another disease. CAD is characterized by autoimmune hemolytic anemia associated with IgM type antibodies, at low temperatures. Clinically CAD is associated with cryoparesthesia and acrocyanosis induced by cold and fever, or it can be asymptomatic and can be detected by abnormalities on cell blood counts.

**Objective:** To describe the clinical and laboratory data and the etiology of CAD. Comparison between this case series and those described in the literature.

**Materials and Methods:** Retrospectively, we analyzed clinical data of patients from Hospital Universitario San Vicente Fundación with positive results for cold agglutinin assays made in the hematology lab from Universidad de Antioquia. We consider patients with titers  $\geq 1:64$  or Coombs test positive for cold antibodies.

**Results:** We describe clinical and laboratory findings included crioagglutinin titers of 23 cases with CAD: 6 of them with primary CAD, 4 with non-Hodgkin Lymphoma (NHL), 8 patients with CAD associated with infectious and autoimmune disease and 5 with CAD miscellaneous diseases.

**Discussion and Conclusions:** This is the first CAD case series described in Colombia. Age and gender were like others case series. Most of patients presented

with hemolytic anemia and cold related symptoms. The hemoglobin/hematocrit ratio was 1:2. Secondary causes were vasculitis, lupus and malaria. Primary CAD were related to NHL, specifically lymphoplasmocytic. Most of the treatments of primary CAD included rituximab.

## KEY WORDS

*Autoimmune Hemolytic Anemia; Cold Agglutinin Disease; Lymphoma; Hematologic Neoplasms; Rituximab*

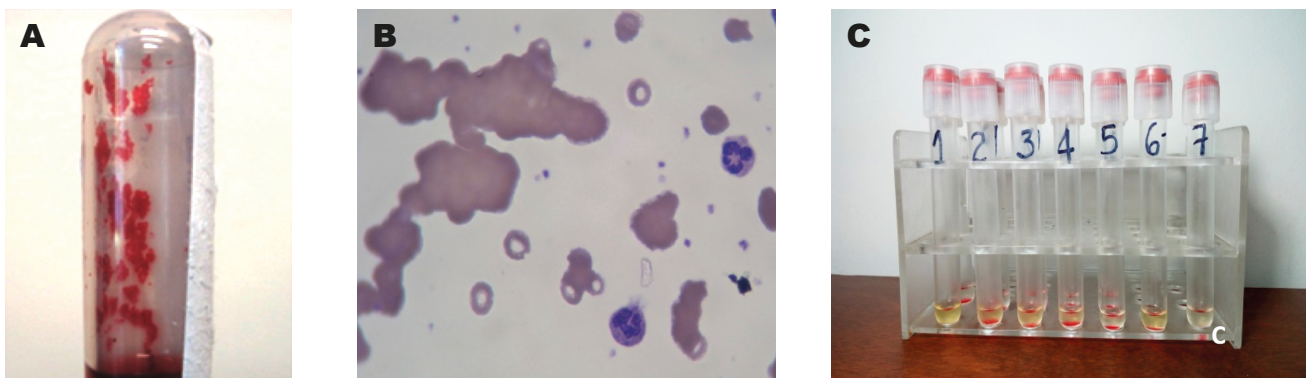
## INTRODUCCIÓN

La aglutinación por anticuerpos fríos en humanos fue descrita por Landsteiner en 1918. Posteriormente, se describió la asociación de dicho anticuerpo con anemia hemolítica y en el año 1957 se realizó el primer reporte de hemólisis por la enfermedad por aglutininas frías (EAF) causada por anticuerpos.

La EAF corresponde con una variedad de anemia hemolítica autoinmune (AHAI) causada por autoanticuerpos, principalmente IgM pentaméricos, que actúan contra el antígeno I de la superficie del eritrocito y reaccionan óptimamente por debajo de los 32 °C, iniciando hemólisis mediada por complemento<sup>(1)</sup> que libera C3b al plasma<sup>(2)</sup>. Aunque dicha unión puede ocurrir en rangos cercanos a la temperatura corporal (entre 36,3 y los 37,1°C), esto depende de la amplitud térmica del anticuerpo<sup>(1-3)</sup>. Dicha enfermedad se presenta en la séptima y octava década de la vida con una prevalencia de 1:100.000 personas, según los estudios previos. Se estima que la EAF primaria representa del 13-15 % de todos los casos<sup>(3-5)</sup>, además de representar un tercio de las AHAI<sup>(4,5)</sup>. Estas enfermedades pueden causar diversos grupos de manifestaciones clínicas: síndrome clínico asociado al frío (SCAF), AHAI por anticuerpos fríos (FAHAI) y la exacerbación de síntomas por la enfermedad febril (ESEF) o bien ser asintomáticas<sup>(5-11)</sup>. La unión de C3b lleva a la activación de pequeñas cantidades de complemento *in situ* en los vasos superficiales de las extremidades<sup>(12,13)</sup>. Como resultado, se produce acrocianosis por estasis sanguínea en los capilares, además de otros síntomas inducidos por el frío, como parestesias, livedo reticularis, necrosis cutánea, polineuropatía<sup>(2)</sup> y el fenómeno de Raynaud<sup>(1)</sup>.

En el laboratorio la aglutinación puede detectarse inicialmente a través del hemoleucograma y verificarse en el extendido de sangre periférica <sup>(14)</sup>. Este fenómeno de aglutinación produce cambios en los contadores automatizados, llevando a un falso incremento en el volumen corpuscular medio de los eritrocitos (VCM) (en ocasiones superior a 140 fL), una falsa reducción en el conteo de glóbulos rojos y un alteración en la relación hemoglobina-hematocrito <sup>(15)</sup>. En ocasiones, dicho fenómeno puede evidenciarse macroscópicamente. La sangre se observa con un aspecto de leche

cortada (Figura 1A); pero, otras veces, es indispensable hacer la observación microscópica (Figura 1B). Otros hallazgos de laboratorio que se puede encontrar es la hemólisis extravascular con hiperbilirrubinemia indirecta y elevación de la deshidrogenasa láctica (LDH); la prueba de antiglobulina directa (DAT, prueba de Coombs) es usualmente positiva para IgM (o IgG) y C3d libre a títulos bajos <sup>(4)</sup>. El diagnóstico de EAF se confirma con pruebas serológicas de crioaglutininas para obtener una titulación de los anticuerpos (Figura 1C).



**Figura 1. Laboratorio en enfermedad por aglutininas frías**

A. Aglutinación de eritrocitos macroscópica en sangre de muestra en tubo con EDTA. B. Aglutinación de eritrocitos en extendido de sangre periférica en 40x en microscopía de luz óptica. C. Prueba de aglutininas positiva\* (tubos con diluciones). Fuente: creación propia

En la actualidad, se sugiere <sup>(12)</sup> denominar la EAF primaria cuando se asocie a neoplasias linfoproliferativas y se demuestre clonalidad en la médula ósea <sup>(4,12)</sup>, y EAF secundaria cuando está asociada con las enfermedades infecciosas o autoinmunes. La EAF primaria se asocia con el linfoma no Hodgkin como el linfoplasmocítico, linfoma de la zona marginal o la macroglobulinemia de Waldenström (MW), donde los anticuerpos son de tipo monoclonal producto de una clona maligna <sup>(7,8,11,16)</sup>. Las causas de la EAF secundaria se deben a enfermedades infecciosas, principalmente por *Mycoplasma pneumoniae* o mononucleosis infecciosa que, en su mayoría, generan anticuerpos policlonales de tipo IgM y, en casos muy raros, IgG <sup>(6,17)</sup>.

El tratamiento de ambos tipos de EAF inicia con medidas no farmacológicas, como evitar la exposición al frío, usar guantes o gorros que proporcionen calor

y recomendación de vivir en zonas cálidas <sup>(18)</sup>. En la EAF primaria el propósito terapéutico es suprimir la

\* Técnica para la determinación de las crioaglutininas (aglutininas al frío) <sup>(26)</sup>: disolver 0,5cc de GR lavados en 9,5cc en SS 0,85% luego tomar 10 tubos y en cada uno colocar 4 gotas de SS 0,85% y luego agregar 4 gotas del suero problema al tubo 1 y 2. El tubo 2 se agita y del contenido se pasan 4 gotas al tubo 3. Este se agita y de él se pasan 4 gotas al tubo 4. El procedimiento se repite hasta el tubo 9 del cual, después de mezclar, se desechan 4 gotas. El tubo 10 es el control. Luego se agregan, a cada uno de los tubos, una gota de la suspensión de GR, finalmente se agita la gradilla para mezclar y poner en la nevera a 4°C durante 24 h. Después de este tiempo, se saca la gradilla donde están los 10 tubos, y se leen inmediatamente, antes de que se calienten. La lectura se hace con luz brillante en fondo blanco. Como título se toma la mayor dilución en la cual hay aglutinación. El título se lee: primer tubo 1:2 – y tubo 9 título de 1:512- Se toma positiva si es >1:64. Las aglutininas frías pueden determinarse a diferentes temperaturas: 2°C, 4°C, 15°C, 20°C y 37°C. El título máximo esta entre 0°C y 5°C. El título disminuye con el aumento de temperatura y desaparece a 37°C.

síntesis de la proteína monoclonal IgM/κ (idiotipo región variable de la cadena pesada VH 4-34) <sup>(19,20)</sup> por medio del rituximab (anticuerpo monoclonal dirigido contra linfocitos B CD20+) como agente único o en la combinación con bendamustina, fludarabina e inhibidores del complemento, estrategia terapéutica que ha mostrado mayores beneficios <sup>(16,21-25)</sup>. En cambio, en la EAF secundaria el objetivo terapéutico se centra en corregir la enfermedad de base infecciosa o autoinmune que la está causando.

En Colombia no existen datos de la prevalencia de la EAF ni de sus formas de presentación. Esta serie de casos es la primera en describir las manifestaciones clínicas y las alteraciones del hemograma que permitirán su detección, las causas más frecuentes y la confirmación por prueba de crioaglutininas y Coombs directa para anticuerpos fríos (DAT).

## MATERIALES Y MÉTODOS

De forma retrospectiva se analizaron los datos clínicos y de laboratorio de pacientes usando el sistema SAP del Hospital Universitario San Vicente Fundación. Se encontraron resultados positivos para la técnica de determinación de las crioaglutininas (aglutininas al frío) <sup>(26)</sup>, (tubos con diluciones). Estas pruebas fueron realizadas en el laboratorio de hematología de la Universidad de Antioquia desde el 2012 hasta 2017.

Se consideró como valor positivo títulos  $\geq 1:64$  o con prueba de Coombs directa positiva para anticuerpos fríos con el método de gel poliespecífico <sup>(25)</sup>. Se buscó el diagnóstico final y se clasificó de acuerdo con la etiología de la enfermedad. Se definió EAF secundaria en las que existiera una enfermedad infecciosa o autoinmune de base, sin neoplasia linfoproliferativa. Se definió como primaria en los pacientes con linfoma de base o en quienes, después de un estudio exhaustivo (incluyendo biopsia de médula ósea), no se tuviera una etiología secundaria.

Se describió el género, la edad y las características clínicas agrupadas de acuerdo con el grupo de síntomas ESEF, SCAF, FAHAI y si era EAF primaria o secundaria <sup>(3)</sup>. Los datos analizados del hemoleucograma incluyeron el recuento de glóbulos rojos ( $10^6/\mu\text{l}$ ), hemoglobina (gr/dl), hematocrito (%), extendido de sangre periférica, volumen corpuscular medio VCM (fermolitros), reticulocitos (%), leucocitos ( $\times 10^5/\mu\text{l}$ ), plaquetas ( $10^5/\mu\text{l}$ ), además,

la velocidad de sedimentación globular VSG (mm/hr), inmunoglobulina M (mg/dl), vitamina B12 (en pg/mL), bilirrubinas (en mg/dl), LDH (en Unidades/L), títulos de crioaglutininas (por el método de dilución, ver nota Figura 1) y prueba de Coombs directo y fraccionado (DAT). Se analizaron otros exámenes de interés para el diagnóstico etiológico para la EAF como neutrófilos, linfocitos, serologías para VIH, antígeno S de VHB, anticuerpos contra VHC, VDRL, IgG para *Mycoplasma pneumoniae*, anticuerpos antinucleares, anticuerpos contra antígenos extraíbles del núcleo, factor reumatoide (en mg/dL), anticardiolipinas, electroforesis de proteínas, IgG (mg/dl), IgA (mg/dl),  $\beta 2$ -microglobulina (en mg/dl), crioaglutininas, viscosidad, tiempos de protrombina, tiempo de trombo-plastina parcial (segundos), ferritina (en ng/mL) y, en médula ósea, citometría, mielograma, cariotipo y biopsia.

Las variables clínicas, demográficas y de laboratorio con distribución normal se describen con la mediana y el rango intercuartil (RIQ). El análisis de las diferencias entre las variables del laboratorio del grupo de EAF primarias y secundarias se realizó con la prueba, no paramétrica, de la U de Mann-Whitney. De manera exploratoria, las correlaciones entre variables analíticas como la hemoglobina o la relación entre esta y el hematocrito con los títulos de IgM y los de las crioaglutininas se realizaron con la prueba, no paramétrica, del coeficiente de correlación de Spearman.

## RESULTADOS

En el presente trabajo de 23 casos de EAF primarias y secundarias, 20 pacientes (86,9 %) cumplieron con la definición de caso por títulos de crioaglutininas  $\geq 1:64$ . De los 3 restantes, 1 cumplió con la definición por la prueba directa de antiaglutininas (Coombs). Esta fue positiva en 17 pacientes (73,9 %). De estos, el Coombs fraccionado para anticuerpos fríos fue positivo en 11 de ellos para IgM o C3d y, 6 para IgG y C3d a títulos bajos.

La prueba de crioaglutininas en la literatura se considera clínicamente significativa cuando supera la dilución 1:64 <sup>(4,24)</sup>, en nuestro estudio la mediana fue de 1:512. En 3 casos los títulos estuvieron debajo de 1:32 (ver discusión).

La media de la edad fue de 60 años y 19 pacientes eran mujeres (82,6 %). En 8 casos (34,7 %) se presentaron síntomas circulatorios asociados al frío (SCAF) en el debut de la enfermedad, 6 pacientes (26,1 %) su

manifestación clínica fue la anemia hemolítica (AH) y 4 (17,4 %) exacerbación de los síntomas durante la enfermedad febril (ESEF). No se encontraron diferencias entre la presentación clínica ni en los laboratorios de

la EAF primaria en comparación con la EAF secundaria (Tablas 1 y 2). Un paciente no presentó síntomas y la detección de la EAF se basó en las anomalías específicas del hemograma (Tabla 2).

**Tabla 1. Variables demográficas, grupos de síntomas y etiología de las enfermedades de 23 casos de EAF**

Variables	% (n) y mediana (RIQ)
Género (femenino)	82,6 (19)
Edad	60 (42-69)
30 – 45	34,8 (8)
46 – 60	17,4 (4)
61 – 75	39,1 (9)
76 – 90	8,7 (2)
Grupos de síntomas	
Síndrome clínico asociado al frío (SCAF)	34,7 (8)
Anemia hemolítica por anticuerpos fríos (FAHAI)	26,1 (6)
Exacerbación de los síntomas por enfermedad febril (ESEF)	17,4 (4)
Otros	17,4 (4)
Asintomático	4,4 (1)
Etiología de las enfermedades	
Primaria (incluyendo macroglobulinemia de Waldenström)	26,1 (6)
Primaria otros linfoma no Hodgkin (LNH)	17,3 (4)
Secundarias a Enfermedades autoinmunes	17,3 (4)
Secundarias a Enfermedades infecciosas	17,3 (4)
Misceláneas (Primaria y secundaria)	8,6 (2)
LNH + enfermedades autoinmunes	4,3 (1)
LNH + enfermedades infecciosas	8,6 (2)
LNH + enfermedades autoinmunes + infecciosas	

Fuente: creación propia

La relación entre la hemoglobina y el hematocrito fue de 1:2,06 (valor normal de 1:3). Esta constituye un parámetro que permite identificar por medio del hemograma algunos pacientes con EAF<sup>(15)</sup>. Seis pacientes (26,1 %) presentaron anemia hemolítica (FAHAI) (Tabla 1). En los hallazgos de laboratorio se encontró reticulocitosis, hiperbilirrubinemia y elevación de la LDH (media de la reticulocitos 4,8 %, media de la bilirrubina total 1,56 mg/dL, media de LDH 554 U/L) (Tabla 2). Se descartaron otras causas de hemólisis.

La etiología: 6 casos con EAF primaria, 4 con EAF asociada con linfoma no Hodgkin (LNH), entre ellos linfoma linfoplasmocítico, del manto y difuso de célula B grande. Causas secundarias: 4 casos estuvieron asociados con enfermedades infecciosas (entre

ellas neumonía, malaria y endocarditis infecciosa), 4 casos con EAF secundarias a enfermedades autoinmunes (entre ellas lupus eritematoso, vasculitis, síndrome de Sjögren) y, finalmente, 5 casos con EAF asociados a enfermedades misceláneas, entre las que se encontraron linfomas con enfermedades infecciosas y autoinmunes.

En la correlación de variables, no hubo diferencias en los laboratorios entre los casos con EAF primaria y secundaria. Tampoco entre el título de IgM y hemoglobina o, la relación entre hemoglobina y hematocrito (Rho -0,227 y -0,038) (Tabla 3). Parece existir una relación inversa entre los títulos de crioprecipitinas y la relación hemoglobina/hematocrito alterada (Rho -0,683) (Figura 2).

**Tabla 2. Variables de laboratorio de los 23 casos de EAF primarias y secundarias**

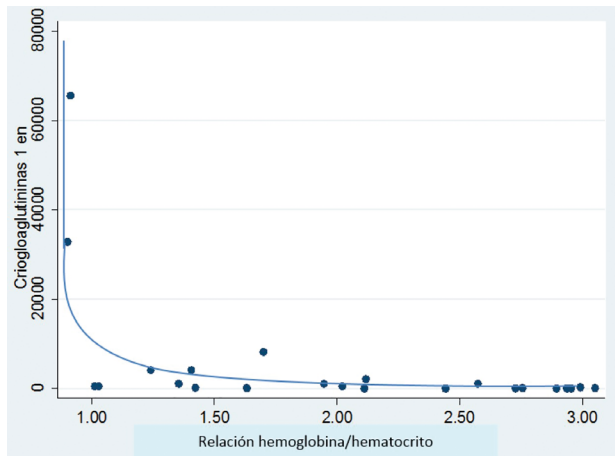
Variables	Total	EAF secundaria (n = 10)	EAF primaria (n = 13)	Valor de p*
		Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)	
Glóbulos rojos (x10 <sup>12</sup> /L)	1,9 (0,8 – 2,8)	2 (0,8 – 2,8)	1,5 (1 – 2,6)	0,8041
Hemoglobina (gr/dL)	7,9 (7,6 – 11,8)	9,5 (7,6 – 11,8)	7,7 (7,6 – 9,7)	0,3197
Hematocrito (%)	16,5 (10,4 – 22)	17,7 (10,3 – 23,2)	16,3 (11,3 – 21)	0,8524
Relación Hto/Hb	2 (1,4 – 2,8)	2,0 (1,2 – 2,9)	2,0 (1,4 – 2,7)	0,8524
VCM (fL)	101,9 (98–113,4)	101,0 (98,6 – 113,4)	104,0 (98,0 – 107,9)	0,4832
Leucocitos (x10 <sup>3</sup> /μl)	5,2 (3,9 – 8,6)	5,2 (3,9 – 6,5)	6,7 (3,9 – 9,1)	0,7096
Plaquetas (x10 <sup>3</sup> /μl)	121 (73 – 271)	210 (100 – 271)	82,5 (49 – 190)	0,1537
Reticulocitos (%)	4,8 (1,8 – 5,6)	5,4 (1,8 – 7,6)	3,7 (1,2 – 4,8)	0,4211
VSG (mm/hr)	64 (7 – 88)	72 (7 – 84)	46 (20 – 56)	0,564
LDH (U/L)	554 (343 – 925)	584 (401 – 925)	531 (310 – 841)	0,5660
Bilirrubina total (mg/dL)	1,5 (1,2 – 2,9)	1,5 (1,2 – 3,1)	1,6 (1,2 – 1,9)	0,5682
Crioaglutininas (n = 20)	512 (16 – 2048)	1:256 (1:16 – 1:1024)	1:768 (1:64 – 1:2048)	0,6182
Coombs directo (n = 17)	+	4	2	NA
	++	5	3	
	+++	5	2	
	++++	3	2	
Fraccionado	IgM/c3D	11	6	NA
	IgG +C3d	6	2	
Aglutinación de GR en extendido de sangre periférica	18	6	12	NA
Vitamina B12 (pg/mL)	740 (431 – 1.307)	1.002 (415 – 1349)	589 (446 – 1.265)	0,7913
Inmunoglobulina M (mg/dL)	409 (285 – 746)	409,5 (291,5 – 784)	410 (204 – 729)	0,6726

\* Se realizó con la prueba no paramétrica de la U de Mann-Whitney. Fuente: creación propia

**Tabla 3. Correlación entre las variables de interés en serie de casos de crioaglutininas**

Variable 1	Variable 2	Rho*
Título de IgM	Hemoglobina	-0,2207
	Relación hb/hto	-0,0386
Título de crioaglutininas	Relación hb/hto	-0,6839

\* Se realizó con la prueba no paramétrica del coeficiente de correlación de Spearman. Fuente: creación propia



**Figura 2. Correlación gráfica entre la hemoglobina hematocrito con los títulos de crioprecipitinas en 23 pacientes de la serie de casos**

Fuente: creación propia

## DISCUSIÓN

En nuestro conocimiento, este estudio es a la fecha la primera serie de casos reportada en Colombia de la EAF primaria y secundaria. La más grande reportada en la literatura de EAF primaria es la de Berentsen (Noruega), en la cual se estudiaron 86 pacientes <sup>(9)</sup>.

Se definieron los casos conforme a la literatura <sup>(25)</sup>. Los títulos de aglutininas positivo ( $\geq 1:64$ ) confirmaron la enfermedad, pero se presentaron títulos ( $\leq 1:32$ ) en 3 casos (13,0 %) que fueron incluidos, uno por prueba de Coombs directa positiva para anticuerpos fríos y los otros 2 por MW como diagnóstico final. Clínicamente, eran altamente sintomáticos y presentaban concomitancia de crioglobulinas positivas, por lo cual es probable que exista una interferencia con la lectura de las crioprecipitinas.

La edad (mediana de 60 vs 67 años) y el género (% en mujeres 82,5) de presentación fueron similares al de otras descritas en la literatura. La EAF posee manifestaciones clínicas heterogéneas <sup>(12)</sup> que pueden agruparse en ESEF, SCAF, FAHAI. En comparación con nuestro estudio, en el estudio de Berentsen los grupos de síntomas se presentaron en proporción diferente ESEF (17,4 % vs 44 %), SCAF (34,7 % vs 68 %) y FAHAI (26,1 % vs 7 %). En nuestro trabajo observamos una mayor proporción de pacientes con FAHAI y otra

menor de ESEF. En ambas series la manifestación predominante fue de SCAF <sup>(5)</sup>.

La relación normal hemoglobina/hematocrito en el hemograma es de 1:3, pero en nuestra serie encontramos un resultado alterado de 1:2. Esta alteración está explicada por la aglutinación de los glóbulos rojos y se asocia con la aglutinación de eritrocitos en el extendido de sangre periférica, que fue documentada en 18 pacientes (78,2 %). Al recalentar la muestra de estos pacientes y correr de nuevo los conteos de glóbulos rojos, hemoglobina y hematocrito se corrigieron a rangos casi normales (datos no mostrados). La media del VCM fue de 101,9 fL, esto se debe a la lectura de un volumen alto correspondiente a varios eritrocitos aglutinados <sup>(14)</sup>. Los niveles séricos de vitamina B12 fueron normales (mediana 739,5 pg/mL), por lo que la macrocitosis se debe a la aglutinación y a la reticulocitosis. Consideramos que la alteración en esta relación puede significar un hallazgo de laboratorio que orienta a pensar tempranamente en EAF <sup>(15)</sup>.

Encontramos una tendencia que en EAF primarias era más frecuente la trombocitopenia (121000 vs 210000), pero no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,153$ ) al comparar el resto de las variables de laboratorio de pacientes con EAF primaria y secundaria.

De los 17 pacientes con prueba de Coombs positiva, 11 (47,8 %) lo fue para IgM o C3d, como es lo usual para EAF (79 % en la serie de Berentsen), pero 6 pacientes (26,0 %) resultaron con prueba positiva para IgG y C3d a títulos bajos. La positividad para IgG no implica necesariamente que se trate de AHAI por anticuerpos calientes. En el estudio de Chandesris se evaluaron 58 pacientes (mediana de edad: 59 años), se les realizó prueba de Coombs y se encontró que el 74 % de estos eran positivos para C3d, 22,4 % positivos para C3d y IgG, simultáneamente y, hasta un 3,4 % solo positivo para IgG <sup>(27)</sup>.

Finalmente, tanto en los casos de EAF primaria como secundaria no observamos una correlación positiva entre los valores de IgM y hemoglobina o la relación hemoglobina/hematocrito. Pero de manera consistente, los títulos de crioprecipitinas muestran una correlación inversa con la relación hemoglobina/hematocrito (Rho -0,683).

Dentro de las series de casos que reportan EAF asociadas con enfermedades infecciosas, las de mayor frecuencia fueron *Mycoplasma pneumoniae* <sup>(6,10)</sup> y mononucleosis infecciosa por virus de Epstein-Bar, *Toxoplasma gondii* y citomegalovirus. En la literatura existen solo 4 reportes de tuberculosis asociado con EAF. Nuestros datos indican que 7 casos de EAF estuvieron asociados con enfermedades infecciosas, de los cuales, 4 de neumonía, 2 de malaria y se documentó 1 caso de tuberculosis peritoneal (30,4 % en total para enfermedades infecciosas).

En los casos de neumonía no se solicitó la serología para *Mycoplasma pneumoniae*, lo que indica el desconocimiento de esta frecuente asociación. Finalmente, hubo 8 casos de EAF secundarias a enfermedades autoinmunes: 3 de vasculitis, 4 de lupus eritematoso sistémico y 1 de síndrome de Sjögren (34,7 % en total para enfermedades autoinmunes).

Consideramos que en los pacientes que se presenten con EAF se deben descartar enfermedades infecciosas y autoinmunes, ya que son las principales causas secundarias. Dentro de las neoplasias hematológicas que cursan con EAF no encontramos casos de mieloma múltiple. Esto es consistente con series reportadas en la literatura <sup>(18)</sup>, donde se encontró que la EAF solo estuvo presente en el 0,6 % de los casos.

De las neoplasias linfoproliferativas, en nuestra serie de casos se reportan 5 de EAF por MW, lo cual es un hallazgo constante en otras series reportadas en la literatura <sup>(9,18-19)</sup> y, en la serie de Berentsen *et al.*, donde se estableció el diagnóstico de linfoma en el 90 % de los casos de EAF primaria, de estas, el 50 % se asociaron con el linfoma linfoplasmocítico (linfoma cuya variedad pertenece a la MW) <sup>(28)</sup>.

En las series, la proteína monoclonal que se encontró con mayor frecuencia fue el isotipo IgM en el 90 % con cadena liviana  $\kappa$  en 94 % <sup>(22)</sup>. En concordancia con lo anterior, en 5 casos (21,7 %) de nuestra serie se encontró la evidencia de hipergammaglobulinemia monotípica IgM en el proteinograma de electroforesis en suero e inmunofijación. La mediana de títulos de IgM fue de 409 mg/dl.

Sin embargo, el título de crioaglutininas no se relaciona con la cantidad de proteína monoclonal; de hecho, en el estudio de Berentsen la media fue solo de 4gr/dl. Se acepta que es la *afinidad* por la unión de IgM a los glóbulos rojos, más que la cantidad de títulos

de IgM, el factor crítico para el desarrollo de hemólisis en EAF. En concordancia, en los resultados de la serie de casos que aquí se presenta, los niveles de IgM no guardan una relación con los títulos de aglutininas, ni con el grado de hemólisis.

En estos 5 casos se evidenció en la médula ósea un componente linfoplasmocitario monoclonal conformado por linfocitos B positivos para CD20+ CD23+ Kappa+ Lambda- CD10- CyD1neg CD5/CD3- CD10 en la inmunohistoquímica, pero en la serie de Berentsen, hasta un 26 %, no tenían población monoclonal en el estudio de la médula ósea. Esto último parece indicar que la EAF primaria puede tratarse de un desorden clonal linfoproliferativo distinto a la MW o de otros linfomas <sup>(18)</sup>.

La terapia convencional con esteroides y esplenectomía, que produce respuesta clínica en la AHA por anticuerpos calientes IgG, es inefectiva en la EAF primaria. Varios estudios han documentado una respuesta efectiva en pacientes con EAF primaria con el anticuerpo monoclonal anti-CD20, rituximab <sup>(20-25)</sup>. Nuestro estudio posee una limitación en el seguimiento de los casos que recibieron quimioterapia.

Los 5 pacientes con MW fueron tratados con este esquema de rituximab y fludarabina (R+F), pero no se tienen datos de la tasa de respuesta a este tratamiento, ni con los que recibieron R-CHOP, ya que en el sistema de salud colombiano muchas de las quimioterapias son autorizadas solo ambulatoriamente o en otros hospitales. Las EAF secundarias se trataron con medidas de exposición al frío y tratamiento de la enfermedad de base.

## CONCLUSIONES

Este estudio es el primero que describe las causas de EAF primaria y secundaria (infecciosas y autoinmunes) en nuestro medio, así como también lo hace de las diversas manifestaciones clínicas: síntomas al frío, fiebre y anemia hemolítica. Además, señala cuáles datos en el hemograma inicial (alteración en relación hemoglobina hematocrito y aglutinación) permiten sospechar de la EAF.

La prueba de aglutininas al frío y el procedimiento de Coombs confirman el diagnóstico de EAF. Esta última es primaria en un desorden clonal de manifestaciones similares que tiene asociación con linfoma



no Hodgkin (especialmente MW) y, que su identificación temprana permite dar un tratamiento dirigido. En el futuro se deben realizar seguimientos prospectivos de esta enfermedad y evaluar los pacientes con criterios objetivos de respuesta hematológica al tratamiento.

## CONFLICTOS DE INTERESES

Ninguno por declarar.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hoffbrand AV, Catovsky D, Tuddenham EGD. Postgraduate Haematology. 5 ed. EEUU: Publishing B, 2005.
- Jaime Pérez JC, Gómez Almaguer D. Hematología: la sangre y sus enfermedades. EEUU: McGraw-Hill, 2005.
- Berentsen S, Ulvestad E, Langholm R, Beiske K, Hjorth-Hansen H, Ghanima W, et al. Primary chronic cold agglutinin disease: a population based clinical study of 86 patients. *Haematologica*. 2006;91(4):460-6.
- Gertz MA. Cold agglutinin disease. *Haematologica*. 2006;91(4):439-41.
- Berentsen S, Beiske K, Tjønnfjord GE. Primary chronic cold agglutinin disease: an update on pathogenesis, clinical features and therapy. *Hematology*. 2007;12(5):361-70. DOI 10.1080/10245330701445392.
- Wu B, Rong R. Cold agglutinin syndrome with severe haemolytic anaemia in a patient diagnosed of disseminated tuberculosis and concomitant *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Transfus Med*. 2012;22(2):151-2. DOI 10.1111/j.1365-3148.2012.01141.x.
- Stone MJ, Merlini G, Pascual V. Autoantibody activity in Waldenström's macroglobulinemia. *Clin Lymphoma*. 2005;5(4):225-9.
- Skorupa A, Chaudhary UB, Lazarchick J. Cold agglutinin induced autoimmune hemolytic anemia and NK-cell leukemia: a new association. *Am J Hematol*. 2007;82(7):668-71. DOI 10.1002/ajh.20876.
- Petz LD. Cold antibody autoimmune hemolytic anemias. *Blood Rev*. 2008;22(1):1-15. DOI 10.1016/j.blre.2007.08.002.
- Han X, He B, Wang F. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2011;34(11):832-6.
- Eskazan AE, Akmurad H, Ongoren S, Ozer O, Ferhanoglu B. Primary gastrointestinal diffuse large B cell lymphoma presenting with cold agglutinin disease. *Case Rep Gastroenterol*. 2011;5(2):262-6. DOI 10.1159/000328445.
- Zilow G, Kirschfink M, Roelcke D. Red cell destruction in cold agglutinin disease. *Infusionsther Transfusionsmed*. 1994;21(6):410-5.
- Kirschfink M, Knoblauch K, Roelcke D. Activation of complement by cold agglutinins. *Infusionsther Transfusionsmed*. 1994;21(6):405-9.
- Godon A, Genevieve F, Marteau-Tessier A, Zandecki M. [Automated hematology analysers and spurious counts Part 3. Haemoglobin, red blood cells, cell count and indices, reticulocytes]. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2012;70(2):155-68. DOI 10.1684/abc.2012.0665.
- Kakkar N. Spurious automated red cell parameters due to cold agglutinins--a report of two cases. *Indian J Pathol Microbiol*. 2004;47(2):250-2.
- Shirafuji Y, Maeda Y, Iwatsuki K. Cold agglutinin-induced acrocyanosis in a patient with subclinical chronic lymphocytic leukemia: a beneficial response to rituximab. *Eur J Dermatol*. 2010;20(3):394-6. DOI 10.1684/ejd.2010.0908.
- Yegin ZA, Yağci M, Haznedar R. Cold agglutinin disease with IgG monoclonal gammopathy in a case of chronic lymphocytic leukemia: an unusual presentation. *Transfus Apher Sci*. 2009;40(3):219-20. DOI 10.1016/j.transci.2009.03.008.
- Berentsen S. Cold agglutinin disease. *Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2016;(1):226-31. DOI 10.1182/asheducation-2016.1.226.
- Pascual V, Victor K, Spellerberg M, Hamblin TJ, Stevenson FK, Capra JD. VH restriction among human cold agglutinins. The VH4-21 gene segment is required to encode anti-I and anti-i specificities. *J Immunol*. 1992;149(7):2337-44.
- Thorpe SJ, Boulton CE, Stevenson FK, Scott ML, Sutherland J, Spellerberg MB, et al. Cold agglutinin activity is common among human monoclonal IgM Rh system antibodies using the V4-34 heavy chain variable gene segment. *Transfusion*. 1997;37(11-12):1111-6. DOI 10.1046/j.1537-2995.1997.37111298088038.x.
- Vassou A, Alymara V, Chaidos A, Bourantas KL. Beneficial effect of rituximab in combination with oral

- cyclophosphamide in primary chronic cold agglutinin disease. *Int J Hematol.* 2005;81(5):421-3.
22. Sekkach Y, Hammi S, Elqatni M, Fatihi J, Elomri N, Mekouar F, et al. [Efficacy of rituximab in hemolytic anemia with cold autoantibodies case]. *Ann Pharm Fr.* 2011;69(4):205-8. DOI 10.1016/j.pharma.2011.06.002.
23. Schöllkopf C, Kjeldsen L, Bjerrum OW, Mourits-Andersen HT, Nielsen JL, Christensen BE, et al. Rituximab in chronic cold agglutinin disease: a prospective study of 20 patients. *Leuk Lymphoma.* 2006;47(2):253-60. DOI 10.1080/10428190500286481.
24. Gertz MA. Management of cold haemolytic syndrome. *Br J Haematol.* 2007;138(4):422-9. DOI 10.1111/j.1365-2141.2007.06664.x.
25. Berentsen S. How I manage patients with cold agglutinin disease. *Br J Haematol.* 2018;181(3):320-30.
26. Restrepo A. Técnica de aglutininas frías. En: *Técnicas de Laboratorio en Hematología Clínica.* 2 ed. Medellín: Sociedad Colombiana de Hematología; 1975. p 169-70.
27. Chandesris MO, Schleinitz N, Ferrera V, Bernit E, Mazodier K, Gayet S, et al. [Cold agglutinins, clinical presentation and significance; retrospective analysis of 58 patients]. *Rev Med Interne.* 2004;25(12):856-65. DOI 10.1016/j.revmed.2004.08.001.
28. Berentsen S, Ulvestad E, Langholm R, Beiske K, Hjorth-Hansen H, Ghanima W, et al. Primary chronic cold agglutinin disease: a population based clinical study of 86 patients. *Haematologica.* 2006;91(4):460-6.

