

# Uso posnatal de altas dosis de gamma globulina EV en el tratamiento de la enfermedad hemolítica RH

Spinelli S.<sup>a</sup>, Otheguy L.<sup>a</sup>, Larguía M.<sup>a</sup>

El uso posnatal de altas dosis de inmunoglobulina endovenosa (IgGEV) aparece promisorio, en los escasos trabajos publicados, en reducir la necesidad de exsanguinotransfusiones (EXT) en el recién nacido (RN) con enfermedad hemolítica RH (EHRH).

**Objetivo:** Evaluar la eficacia de la IgGEV para moderar la severidad de la hemólisis: necesidad de EXT, tiempo de luminoterapia (LMT) y número de transfusiones (T) en el RN con EHRH.

**Diseño:** Ensayo clínico controlado y randomizado.

**Lugar de estudio:** Hospital Materno Infantil "Ramón Sardá".

**Población y métodos:** Todos los RN con EHRH [Coombs directa (+)], fueron estratificados en 3 grados (leve, moderado y severo) según la severidad de la hemólisis evaluada intraútero. Solicitado el consentimiento informado a los padres, los RN de cada grado se randomizaron en: Grupo tratado: recibió IgGEV (500mg/kg/día por tres días, la primera dosis antes de las 2 horas posnatales) más LMT, y grupo control: solo LMT. Las variables estudiadas fueron: mínimo hematocrito (Hto), bilirrubina (Bi) máxima, n° de EXT y/o T, LMT (hs), internación (días) y tiempo hasta la EXT.

**Resultados:** Entre febrero/99 y mayo/00 fueron enrolados 46 RN (grado leve: 24 y grado moderado-severo (gM-S): 22). 23 RN pertenecieron al grupo tratado y 23 al control. Ambos grupos fueron comparables en sexo, peso, EG y Hto, Bi, Hb y prot. totales de cordón. No se observaron diferencias significativas excepto en n° de EXT. De los 23 RN tratados, 5 requirieron EXT (21,74%) cuando su bilirrubina alcanzó el nivel establecido en las guías del hospital; 18 de los 23 RN controles requirieron EXT (78,26%),  $\text{Chi}^2 0.0011$ . El número necesario a tratar (NNT) fue 1,8 para prevenir una EXT.

La probabilidad de sufrir EXT es significativamente menor en un paciente tratado que en un control, en cualquier momento del período de estudio (Log Rank test  $p= 0,0024$ ).

**Conclusiones:** Estos resultados apoyan el beneficio clínico de tratar con IgGEV a los RN con incompatibilidad RH.

## Introducción

A pesar de haber transcurrido ya treinta años desde que fue aprobado el uso de la profilaxis Anti-D en las embarazadas negativas, la enfermedad hemolítica Rhesus aún se presenta, en nuestro país, como un importante problema causante de morbimortalidad fetal y neonatal.

Con el reconocimiento temprano de los casos graves las transfusiones intrauterinas son el tratamiento de elección que reduce la severidad de la anemia y la mortalidad debida a hidrops fetal, sin embargo posnatalmente estos recién nacidos (RN), al igual que los que no han requerido tratamiento intraútero, necesitan intervención basada fundamentalmente en la fototerapia y las exsanguinotransfusiones.<sup>1</sup> La tasa de mortalidad para este último tratamiento no supera el 1%.<sup>2</sup> Pero los problemas clínicos asociados al procedimiento y el riesgo originado por el uso de sangre de distintos dadores hacen que las complicaciones puedan ser mucho mayores (hasta del 4,2%).<sup>3,4</sup>

Debido a que los anticuerpos (ATC) RH no fijan el complemento, no producen hemólisis intravascular, la destrucción de los glóbulos rojos (GR) sensibilizados unidos al ATC se produce al ligarse a los receptores FC del Sistema Reticuloendotelial (SRE).<sup>5,6</sup> Este proceso es similar al mecanismo de destrucción plaquetaria en la Púrpura Trombocitopénica, enfermedad en la que está probado el efecto terapéutico de altas dosis de gamma globulina administrada en forma intravenosa (IgGEV).<sup>7</sup> Además distintos autores han encontrado que la IgGEV puede ser efectiva, por bloqueo de los receptores Fc del SRE, en la prevención de la hemólisis de los GR sensibilizados en la incompatibilidad Rh y efectiva por lo tanto para lograr disminuir la necesidad de exsanguinotransfusiones (EXS) en estos RN. De la revisión bibliográfica surge que lo publicado es una serie no muy extensa de reportes de casos<sup>8-14</sup> y escasos trabajos sobre el uso de IGGEV como terapéutica de la incompatibilidad Rh.<sup>17-19</sup> Estos trabajos están sujetos a comentarios: diferente categorización de los sujetos estudiados, dosis, y número de dosis diferentes, distintas resultantes evaluadas, etc. Dado estos trabajos e informes con resultados promisorios y al alto número de pacientes atendidos en este

a. Hospital Materno Infantil "Ramón Sardá", Bs. As., Argentina.

servicio, que es centro de referencia de muchos hospitales y clínicas de nuestro país, se decidió llevar a cabo un estudio controlado y randomizado para testear si el uso precoz de altas dosis de inmunoglobulinas intravenosas disminuyen la necesidad de exsanguinotransfusiones en neonatos afectados.

## Pacientes y métodos

Este estudio fue realizado en el Hospital Materno Infantil Ramón Sardá de la Ciudad de Buenos Aires, Argentina entre febrero de 1999 y mayo de 2000. Todos los RN de madres RH negativas sensibilizadas con factor RH positivo y Coombs directa positiva fueron elegibles para el estudio. Se excluyeron los RN con antecedente de terapia prenatal con IgEV y los que tuvieran incompatibilidad ABO u otras posibles causas de hemólisis.

El Comité de Ética del hospital aprobó el estudio y luego de obtener el consentimiento informado de los padres, cada RN fue asignado aleatoriamente a grupo tratado y control. La estratificación de la población según grado de afectación fue determinada por los parámetros de seguimiento del embarazo (antecedentes obstétricos, inmunohematológico, ecográfico y espectrofotometría del líquido amniótico): Grado 1: afectación fetal mínima, que no requiere tratamiento intraútero y permite llegar al término del embarazo. Grado 2: afectación fetal severa que indica la necesidad de interrumpir el embarazo una vez lograda la madurez pulmonar fetal inducida por corticoides. Grado 3: afectación fetal severísima, sin madurez pulmonar fetal, que implica la corrección de la anemia fetal in útero para evitar el hidrops y la muerte fetal. La secuencia de asignación aleatoria fue generada a través de tablas de números aleatorios y su ocultamiento se realizó mediante el uso de sobres opacos y cerrados. El estudio no fue ciego porque no se encontró un placebo adecuado para la IgGEV.

En todos los pacientes enrolados en el estudio se determinó, en sangre de cordón: hematocrito, hemoglobina, bilirrubina, proteínas totales y glucemia. Todos fueron ingresados a luminoterapia, desde el nacimiento, con luz azul u halógena con una intensidad mayor de 10 microwatts/cm<sup>2</sup>/ nm. La fototerapia se administró en forma continua con rotación de decúbitos (45 min y 15 min), protección ocular y genital mínima.

Se efectuaron controles de bilirrubina y hematocrito cada 4 hs durante las primeras 24 hs, cada 6 hs hasta las 72 y luego cada 12 hasta resolución de la hiperbilirrubinemia.

Se indicó exsanguinotransfusión ante las siguientes circunstancias:

1. Ritmo de ascenso del nivel sérico de la bilirrubina  $\geq 1$  mg/ hora.
2. Bilirrubina  $>14$  mg antes de las 24 hs.
3. Bilirrubina  $>18$  mg antes de las 48 hs.
4. Bilirrubina  $>20$  mg en cualquier momento.

Si hubo asfixia perinatal, síndrome de dificultad respiratorio, acidosis metabólica (PH  $< 7,15$ ), albuminemia menor a 2,5 g, peso de nacimiento  $\geq 1500$  gr, los valores se descendieron en un 20%.

Los pacientes asignados a grupo tratado recibieron IgG endovenosa (SD-T Purissimus) a una dosis de 500 mg/kg/dosis, durante las primeras dos horas de vida y luego cada 24 horas hasta cumplir tres dosis. Todos los RN del grupo tratado fueron estrechamente monitorizados durante la administración de la IgGEV incluyendo registro de frecuencia cardíaca, saturación sanguínea de oxígeno y tensión arterial.

La inmunoglobulina (IgG) se obtiene de un pool de plasma humano. Es una IgG monomérica que contiene anticuerpos contra protozoarios, virus, hongos, bacterias y antitoxinas. La misma presenta inactivación viral que consiste en el tratamiento con tributil fosfato (solvente) y trítón X 100 o colato de sodio (detergente). El procedimiento de control de calidad de la IgG endovenosa SD-T Purissimus comprende numerosos ensayos químicos, bioquímicos y biológicos, que aseguran la inocuidad, margen de seguridad y eficacia terapéutica del producto. Entre estos controles se encuentran: la determinación del antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg), anticuerpos contra los virus de la Inmunodeficiencia Humana 1 y 2 (anti-HIV-1/ anti-HIV-2) y los anticuerpos contra el virus de la Hepatitis C (anti.HCV). El método de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) se realiza en la materia prima y en el producto terminado, con el mismo se asegura la ausencia de material genético de los virus anteriormente mencionados.

Se determinó bilirrubina total en suero del recién nacido con el bilirrubinómetro BILITRON ELVI 444 con 20 microlitros de suero. Se obtuvo resultado digital directo en concentración (mg%). La determinación consiste en una doble lectura a dos longitudes de onda 461nm que corresponde a bilirrubina y a 551nm que es la absorción de la hemoglobina sola. Por diferencia de las dos extinciones que el aparato mide automáticamente se obtiene la concentración de bilirrubina de la muestra. Se corre frecuentemente y cada vez que sea necesario un testigo de bilirrubina con concentración conocida. Este testigo tiene las siguientes características: a) la concentración de bilirrubina es de 19-20 mg%. b) es una solución de bilirrubina conteniendo proteínas de modo que se encuentre en condiciones similares al ensayo; c) el coeficiente de extinción de este testigo es del rango de 59.100 a 62.300. El método tiene un error del 5%.

Se midieron las siguientes variables en ambos grupos: hematocrito mínimo diario durante la primer semana de vida, bilirrubina máxima diaria, número de exsanguinotransfusiones, tiempo de vida al realizar la primera exsanguinotransfusión, número de transfusiones durante la primera semana, número de transfusiones posteriores y tiempo de requerimiento de fototerapia.

Se registraron las siguientes variables de confusión para determinar si los grupos fueron comparables: peso de nacimiento, edad gestacional (EG) por FUM, sexo, forma de terminación del parto, asfixia al nacer (Apgar al 5° minuto menor de 6 y PH de cordón menor de 7,10), hematocrito (Htc c), hemoglobina (Hb c) y bilirrubina (Bi c) de cordón.

## Análisis estadístico

El método utilizado para analizar cada variable y el p-valor obtenido se indica en cada caso. Todos los tests se realizaron a dos colas. Antes de aplicar un test se evaluaron los supuestos correspondientes y la decisión de que test utilizar se tomó en base al cumplimiento de los supuestos. Las variables categóricas fueron analizadas con Test exacto de Fisher o Chi<sup>2</sup>. Las variables numéricas fueron evaluadas utilizando el test t (para varianzas homogéneas o no, según correspondiera) cuando la distribución de los datos era aproximadamente normal. Cuando la distribución de los datos presentaba claro apartamiento de la distribución normal, se usó el test de Mann-Whitney para dos muestras.

Tomando a la exsanguinotransfusión como la principal variable resultante, y estimando en grupo control una proporción del 80% y en tratado del 20%, con un nivel de significancia de 0,05 y una potencia del 90% se requerirían aproximadamente 20 recién nacidos en cada grupo.

## Resultados

Durante el período de estudio 58 RN fueron elegibles para ingresar al estudio, 10 fueron excluidos porque los padres no dieron el consentimiento y dos fueron excluidos porque no se cumplieron los criterios de administración de IgGEV. De modo que se enrolaron 46 RN, 23 de los cuales fueron

asignados aleatoriamente a grupo control y 23 a grupo tratado. No hubo diferencias significativas entre los grupos en sexo, peso de nacimiento, EG, forma de terminación del parto, asfixia al nacer, Hto c, Hb c y Bi c. (Tabla 1)

El análisis de las características clínicas, mostradas en la Tabla 1, entre grupo tratado y control según estrato, no mostró diferencias significativas excepto como era de esperar en EG y PN, dado que el grado leve es el que llega a término del embarazo.

Con respecto a las variables resultantes analizadas (Tabla 2), no se observó diferencias significativas entre grupo tratado y control excepto en número de EXT.

De los 23 RN tratados, 5 requirieron EXT (21,74%) cuando su bilirrubina alcanzó el nivel establecido en las guías del hospital; 18 de los 23 RN controles requirieron EXT (78,26%), Chi<sup>2</sup> 0,0011.

Dicha diferencia, analizando según estrato, surge del grado moderado a severo. De los 10 RN tratados, 3 requirieron EXT (30%) cuando su Bi alcanzó el nivel establecido en las guías del hospital; 12 de los 12 RN controles requirieron EXT (100%). Test de Fisher p= 0,0007.

La probabilidad de sufrir EXT es significativamente menor en un paciente tratado que en un control, en cualquier momento del período de estudio (Log Rank test p= 0,0024). (Ver Figuras 1 y 2)

**Tabla 1: Características clínicas**

Grupo	Control	Tratado	p valor
PN (g)	2646 ± 722*	2890 ± 639	0,2324 #
EG (sem)	37 (31 - 41)**	37 (32 - 41)**	0,2866 †
Sexo varón/mujer	13/23	13/23	
Hb cordón	12,7 ± 3*	12 ± 3,3*	0,4735 #
Hto cordón	39 ± 10*	35,6 ± 12,2*	0,3020 #
Bi cordón	4 ± 1,9*	4,6 ± 2,2*	0,3532 #
Proteínas cordón	5,1 (4,4 - 6,8)**	5,2 (4 - 6)**	0,4958 †

\* Media ± DS, \*\* Mediana (máx.-mín.)

# t test, †Mann Whitney

G1 Cont= paciente de Grado 1 que recibió placebo (n= 11)

G1 Trat= paciente de Grado 1 que recibió gammaglobulina (n= 13)

G2-3 Cont= paciente de Grado 2 ó Grado 3 que recibió placebo (n= 12)

G2-3 Trat= paciente de Grado 2 ó Grado 3 que recibió gammaglobulina (n= 10)

**Tabla 2: Variables resultantes**

Grupo	Control (n=23)	Tratado (n= 23)	p valor
Hto mín.	23 ± 5*	22,9 ± 5,2*	0,9115#
Bi máx.	15,5 ± 4,7*	17,6 ± 5,5*	0,1757#
EXT	18/23 (78,26%)	5/23 (21,74%)	0,0011†
LMT (hs)	133 ± 41*	140 ± 45*	0,6046#
Internación (días)	9 (4 - 140)**	8 (4 - 56)**	0,8821†
Transfusiones	0 (0 - 3)**	0 (0 - 3)**	1,000†

\*media ± DS, \*\* mediana (máx.-mín.)

† Chi<sup>2</sup>.

# t test, † Mann-Whitney.

A pesar de que el cambio observado en la probabilidad de sufrir EXT al pasar del grupo tratado al control no resulta estadísticamente significativo para el grupo de pacientes con grado leve de la patología, la dirección del cambio es la misma que en el grado moderado a severo.

El número necesario a tratar (NNT) fue 1,8 para prevenir 1 EXT.

### Discusión

Las inmunoglobulinas intravenosas han sido extensivamente utilizadas en neonatos ya sea como tratamiento de la trombocitopenia isoimmune o en la prevención de sepsis bacteriana sin demostrar efectos adversos a corto o largo plazo.<sup>20-23</sup>

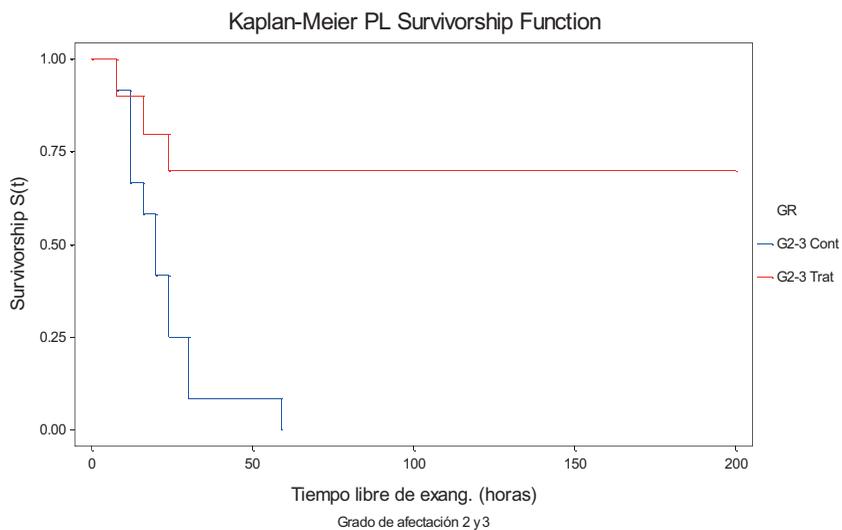
Además hay reportes de su utilidad en la enfermedad hemolítica Rhesus para prevenir la muerte fetal y disminuir la gravedad de la enfermedad intraútero al ser administrada durante el embarazo.<sup>24,25</sup>

El esquema de administración de 500 mg /kg/ dosis repetido durante los tres primeros días de vida. La primera dosis antes de las dos horas del nacimiento y las dos siguientes cada 24 hs; fue elegido aceptando que el mecanismo de acción es el bloqueo de los receptores Fc del SRE. La administración lo más precoz posible y repetida bloquearía dichos receptores logrando evitar la hemólisis en los primeros días en los que se produce un aumento brusco y sostenido de la bilirrubina.

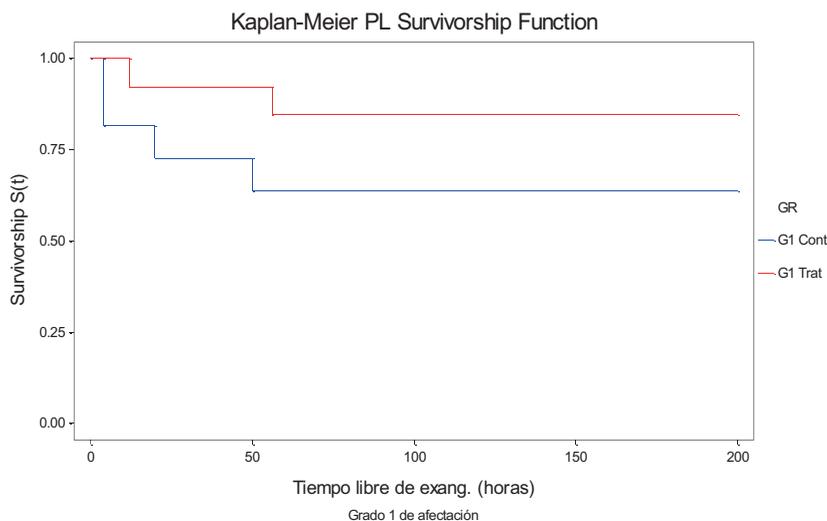
Todo tratamiento capaz de evitar la exsanguinotransfusión adquiere importancia por tratarse de un procedimiento costoso, lento, que debe ser realizado por médicos entrenados y conlleva riesgo de morbimortalidad para el RN derivado del procedimiento en sí y del uso de sangre de distintos donadores.

En este estudio se efectuaron 28 EXS en 23 pacientes del grupo control (aproximadamente 1,2 exs/pac) comparado con 6 EXS en 23 pac del grupo tratado (0,26 exs/pac). Al analizar este resultado según grado de afectación surge que

**Figura 1:** Grado M-S. Logrank test,  $p=0,0024$



**Figura 2:** Grado leve. Logrank test,  $p=0,2216$



la diferencia se apoya en el grado moderado-severo, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas en las afectaciones leves, aunque la potencia para afirmar esto no es suficiente. Esto es coincidente con el análisis del requerimiento de EXS en la población atendida en nuestro hospital, analizado de una base de datos de 6 años de seguimiento. Las afectaciones leves requieren exsanguinotransfusiones alrededor del 20% mientras que en los casos de afectación moderada-severa esto ocurre en aproximadamente 80% de los casos.

Aunque la administración de IgGEV en altas dosis representa un modo de tratamiento de la hiperbilirrubinemia menos costoso y menos invasivo que la exsanguinotransfusión, la observación de que en las afectaciones leves el tratamiento fundamentalmente se basa en la administración de lumioterapia efectiva significa que en la mayoría de estos casos el uso de IgGEV no sería costo-efectiva y que debería ser recomendado seleccionar los pacientes.

Es importante recalcar que en base a estos resultados se necesitarían tratar menos de dos niños para evitar una exs. (NNT: 1,8)

No se observaron efectos adversos durante la administración de la IgGEV, teniéndose en cuenta que se realizó lentamente (2 hs).<sup>26,27</sup>

## Conclusión

La IgGEV en altas dosis representa una buena alternativa en el tratamiento de la enfermedad hemolítica RH para evitar la exsanguinotransfusión fundamente en los casos de afectación moderada y severa. Recordando que la terapia definitiva para esta enfermedad es la **prevención** a través del uso adecuado de la gamma globulina hiperinmune Anti-D.

## Análisis estadístico de los datos del Ensayo Clínico:

Realizado por: Lic. Liliana Orellana.

Instituto de Cálculo.

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Universidad de Buenos Aires.

## Bibliografía

- Gollin Y, Copel J. Management of the Rh sensitized mother. *Clinics in Perinatology* Septiembre 1995; 22, 3.
- Weldon W, Odell G.B. Mortality risk of exchange transfusion. *Pediatrics* 1968; 41:797-801.
- Panagopoulos G, Valaes T. Morbidity and mortality related to exchange transfusions. *J Pediatrics* 1969; 74:247-54.
- Keenan WJ, Novak K, et al. Morbidity and mortality associated with exchange transfusion. *Pediatrics* 1985; 75(suppl.):417-21.
- Jandl JH, Jones A R. The destruction of red cells by antibodies in man. *J Clin Invest* 1957; 36:1428.
- Nathan and Oski. *Hematology of infancy and childhood*. 4 th. Ed. 1993; 1:51-3.
- Wenske G, Gaedicke G. Idiopathic thrombocytopenic purpura in Pregnancy and Neonatal period. *Blood* 1984; 48:377-82.
- Kubo S, Ariga T. Can High-dose immunoglobulin therapy be indicated in neonatal rhesus hemolysis? A successful case of

- haemolytic disease due to Rhesus Incompatibility. *Eur J Pediatr* 1991; 150(7):507-8.
- Ergaz Z, Arad I. Intravenous immunoglobulin therapy in neonatal immune hemolytic jaundice. *J Perinat Med* 1993; 21(3):183-7.
- Jovani L. Gammaglobulinoterapia en la ictericia hemolítica por isoimmunización. *Archivos de Pediatría* 1993; 44(2):183-5.
- Sato K, Hara T. High-dose intravenous Gammaglobulin Therapy for neonatal Immune Haemolytic Jaundice. *Acta Paediatr. Scand* 1991; 80:163-6.
- Hofstadler G, Honenauer L. High-Dose Immunoglobulin therapy in Rhesus incompatibility. *Klin. Pediatr.* 1995; 207(3):103-5.
- Merchant H, Pradeep S. Intravenous immunoglobulin therapy for hyperbilirubinemia caused by Rhesus Hemolytic Disease. *Indian Pediatrics* 1994; 31:1269-71.
- Gotvall T, Hilden J. Severe Rh(D) immunization: Anti-D quantitation and treatment possibilities during pregnancy and after birth. *Acta Paediatr* 1995; 84(11):1315-17.
- Hammerman V, Vrenan HJ. Intravenous immune globulin in neonatal immune hemolytic disease: does it reduce hemolysis? *Acta Paediatr* 1996; 85(11):1351-53.
- Ergaz Z, Gross D. Carboxyhemoglobin levels in neonatal immune hemolytic jaundice treated with intravenous gammaglobulin. *Vox Sang* 1995; 69(2):95-9.
- Rubo J, Albrecht K. High-Dose Intravenous Immune globulin therapy for hiperbilirubinemia caused by Rh hemolytic disease. *J Pediatr* 1992; 121(1):93-7.
- Votto L, Sexer H. Neonatal administration of High-Dose intravenous immunoglobulin in Rhesus Hemolytic disease. *J Perinat Med* 1993; 23:443-51.
- Dagoglu T, Ovali F. High-dose intravenous immunoglobulin therapy for Rhesus Haemolytic disease. *J Int Med Res* 1995; 23(4):264-7.
- Haque KN. Intravenous immunoglobulins versus sepsis. *Pediatrics* 2000; 105(5):1173.
- Fisher G W. Intravenous immunoglobulin in the treatment of neonatal. Sepsis. *Ped Infect Dis* 1986; 5:171.
- Hanada T. Intravenous immunoglobulin therapy for thrombocytopenic neonates. *Eur J Haematol* 1987; 38:400-4.
- Berger M. Immunoglobulins in the Newborn. *Current Opinion in Infect. Diseases* 1991; 4:479-84.
- Gottvall T, Hilden JO. Severe RH(D) immunization: anti-D quantitation and treatment possibilities during pregnancy and after birth. *Acta Paediatr* 1995; 84(11):1315-17.
- Deka D, Buckshee K, Kinra G. Intravenous immunoglobulin as primary therapy or adjunct therapy to intrauterine fetal blood transfusion: a new approach in the management of severe RH-immunization. *J Obstet Gynaecol Res* 1996; 22(6):561-7.
- Stangel M, Hartung HP, Marx P. Side effects of high-dose intravenous immunoglobulins. *Clin Neuropharmacol* 1997; 20(5):385-93.
- Cruz M. Gammaglobulinoterapia en la actualidad. *Archivos de Pediatría* 1990; 41(4):187-195.

## Comentario de los autores

Luego de este trabajo fueron tratados con altas dosis de gamma globulina endovenosa, usando mismo esquema de administración, más de 140 RN con esta patología y los resultados avalan la utilidad y se corresponden con el Número Necesario a Tratar (NNT) del trabajo original lo que sin duda permite concluir que el uso posnatal de IGGEV debe ser incorporado a la práctica habitual en nuestras unidades.