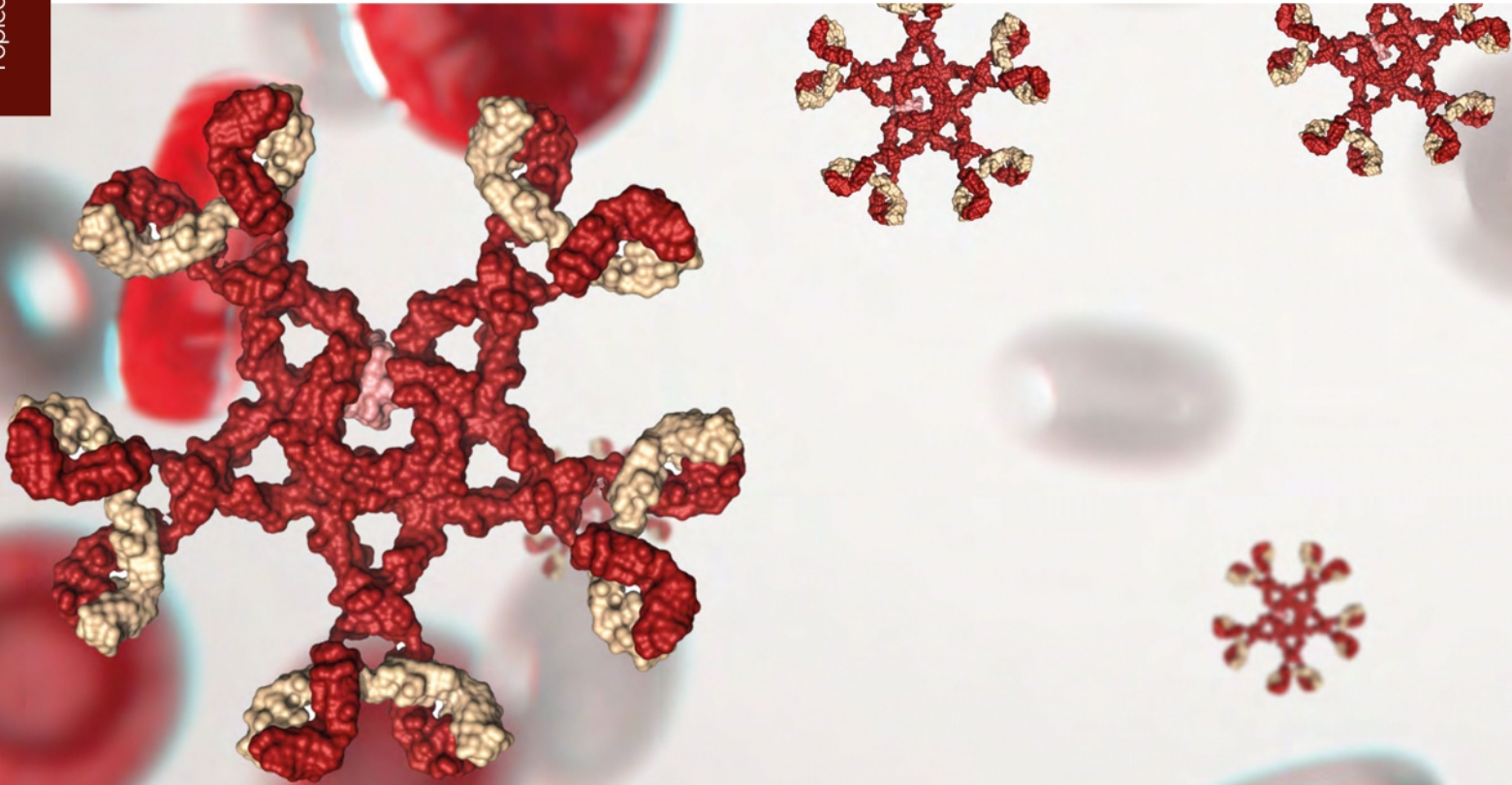


Ditiotreitol (DTT)

Una herramienta para la resolución de problemas inmunohematológicos

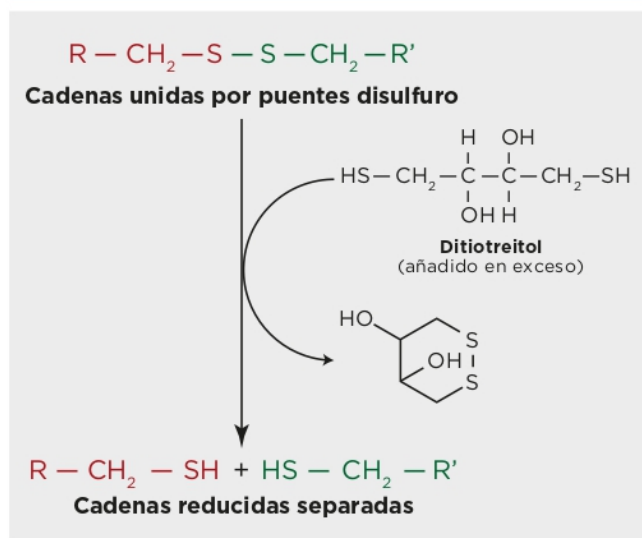
QBP Juan Carlos Garcia Rosales, QC Ana Laura Gorostieta Herrera, QFB María del Rocío Castillo Trigueros - Instituto LICON



Las proteínas son estructuras que cumplen múltiples funciones en el organismo como receptoras, reguladoras, transportadoras y estructurales entre otras. Para estudiar los elementos que integran a las proteínas se recurre al uso de reactivos sulfhidrilos tales como el DTT, y el 2 β- Mercaptoetanol. Estos compuestos pertenecen a un grupo conocido como tioles, los cuales contienen un grupo funcional que consta de un átomo de azufre y un átomo de hidrógeno (-SH) en lugar de un grupo OH (Figura 1).

El Ditiotreitolo (DTT) también denominado reactivo de Cleland, es de gran relevancia en el laboratorio de Inmunohematología, ya que es un potente reductor cuya función principal es “reducir” los enlaces disulfuro formados entre residuos de cisteína que forman parte de la estructura secundaria de las proteínas, por lo que tiene diferentes aplicaciones, (ver Tabla 1).

Figura 1. Mecanismo de acción del Ditiotreitolo (DTT)



Las inmunoglobulinas (IgM, IgG, IgA, IgE e IgD) son de naturaleza proteica y como sabemos las más estudiadas en el laboratorio de inmunohematología son las IgG e IgM, estas últimas se componen de cinco unidades monoméricas unidas por puentes disulfuro y son consideradas como anticuerpos fríos y grandes fijadores de complemento, pero en ocasiones dada la patología, pueden enmascarar la presencia de un anticuerpo clínicamente significativo y es aquí en donde los reactivos sulfhidrilos como el DTT, pueden utilizarse para romper los puentes disulfuro que unen las unidades monoméricas del pentámero de IgM, formando sub unidades de inmunoglobulina con reactividad serológica alterada, lo que nos permite evidenciar la presencia de anticuerpos de clase IgG.

El DTT se puede combinar con enzimas proteolíticas, como la papaína formando el reactivo que se conoce como ZZAP el cual es utilizado para disociar inmunoglobulinas de tipo IgG adheridas a los eritrocitos en pacientes que tienen una prueba de Antiglobulina Directa Positiva (PAD) y posterior al tratamiento con ZZAP los eritrocitos pueden emplearse para hacer una adsorción autóloga o alogénica, sin perder de vista que la combinación de DTT y enzimas proteolíticas desnaturaliza antígenos del sistema Kell y aquellos que son afectados por enzimas.

Por sí solo el DTT desnaturaliza antígenos eritrocitarios, por ejemplo los antígenos del sistema Kell, Dombrock, Cartwright, LW, Knops y JMH, los antígenos del sistema Cromer pueden ser

debilitados además de que anticuerpos como el anti-Vel no reaccionan con eritrocitos tratados con DTT.

El anti-CD38 es un anticuerpo monoclonal conocido como Daratumumab (DARA) que se une a los receptores CD38 presentes también en la membrana de los eritrocitos, este anticuerpo monoclonal (DARA) se utiliza como medicamento en el tratamiento de pacientes con mieloma múltiple, AHAI, entre otras. El DARA genera un problema severo en el laboratorio de inmunohematología, ya que ocasiona resultados falsos positivos en las pruebas serológicas como son: la determinación de grupo sanguíneo, pruebas de compatibilidad, rastreo e identificación de anticuerpos irregulares y en la prueba de antiglobulina directa además se observa panreactividad en los eluatos. El tratamiento de los eritrocitos con DTT 0.2M remueve los receptores CD38 ocasionando que la interferencia producida por el DARA se elimine sin alterar antígenos de sistemas sanguíneos como el Duffy, MNS y Kidd, permitiendo con ello poner de manifiesto la presencia de aloanticuerpos que pudieran enmascarse por la interferencia del medicamento.

Tabla 1. Aplicaciones del DTT en el laboratorio de Inmunohematología como una herramienta de la resolución de problemas.

Reactivo	Usos
DTT	<ul style="list-style-type: none"> Diferenciación entre el tipo de anticuerpos IgG o IgM presentes en una muestra. Identificación de anticuerpos de tipo IgG cuando se encuentran enmascarados por la presencia de anticuerpos de clase IgM Disociación de anticuerpos de clase IgM unidos al eritrocito y que causan aglutinación inespecífica. En una mezcla de anticuerpos; destrucción de algunos antígenos eritrocitarios ayudando así a la identificación de los anticuerpos involucrados. Desnaturaliza receptores CD38 unidos a la membrana del eritrocito. Especialmente útil en pacientes con interferencias causadas por terapia con Daratumumab.
DTT + Enzimas proteolíticas (ZZAP)	<ul style="list-style-type: none"> Disociación de anticuerpos de clase IgG. Preparación de eritrocitos para realizar técnicas de adsorción autóloga o alogénica.

Conclusión:

El DTT es un reactivo que tiene diferente actividad sobre antígenos y anticuerpos eritrocitarios y usándolo en forma adecuada dependiendo del problema inmunohematológico al que nos enfrentemos puede ser de gran utilidad en la resolución del mismo.

BIBLIOGRAFÍA

- Stryer L (1995) *Bioquímica, Investigación de Proteínas*. Edit: Reverte, Edición Cuarta, Vol. 3, Cap.3, pp. 57
- Carrel H, Sutor L (2017) *Transfusion The long Term Storage Effect of 0.2M DTT Dithiothreitol on Red Cell Antigen Integrity in Reagent Red Blood Cell*. Vol: 57, Supplement S3, pp: 36 A
- Judd J (2008) *Judd's Methods in Immunohematology*, Edit: Press AABB, Edición Tercera, pp: 273,465-471.
- Manual Técnico del AABB (2018), *Identificación de Anticuerpos anti-Eritrocitos*. Edición 18, Cap 16.