

2ej
34



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO MONOGRAFICO DE LAS
HIPERBILIRRUBINEMIAS
HEMATOLOGICAS EN LOS RECIEN
NACIDOS: UN ESTUDIO RETROSPECTIVO**

TRABAJO MONOGRAFICO



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUÍMICA**

JULIA FLORES AGUILAR

QUÍMICO FARMACEUTICO BIÓLOGO

MEXICO, D. F.

1986



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

INDICE.

PAG.

1.	Justificación del estudio.	1
2.	Objetivo.	2
3.	Antecedentes.	3
3.1.	Ictericia fisiológica.	8
3.2.	Anormalidades en la morfología de los eritrocitos.	9
3.3.	Hemoglobinopatías.	10
3.4.	Defectos en la síntesis de la hemoglobina.	13
3.5.	Deficiencia enzimática de las células rojas sanguíneas.	14
3.6.	Alteraciones metabólicas.	17
3.7.	Drogas y toxinas.	17
3.8.	Infecciones.	18
3.9.	Miscelaneas.	19
4.	Ictericia del recién nacido por aloinmunización materno fetal.	20
4.1.	Historia.	20
5.	Propiedades generales de los diferentes sistemas de grupo sanguíneo eritrocitario.	28
6.	Herencia.	36
6.1.	Mapa cromosómico.	36
6.2.	Anotación de los grupos sanguíneos.	37
6.2.1.	Sistema ABO.	38
6.2.1.1.	Secreción de los antígenos de los grupos sanguíneos.	44
6.2.2.	Sistema Rh-Hr.	47

7.	Antecedentes de los anticuerpos eritrocitarios.	52
7.1.	Fuerzas involucradas en la aglutinación de las células rojas.	62
8.	Mecanismo de la aloinmunización materno fetal.	64
9.	Enfermedad hemolítica del recién nacido por aloinmunización materno fetal.	67
9.1.	Aloinmunización materno fetal por incompatibilidad ABO.	68
9.2	Enfermedad hemolítica del recién nacido ABO.	72
9.2.1.	Manifestaciones clínicas de la enfermedad hemolítica del recién nacido ABO.	84
9.2.2.	Hallazgos de laboratorio de la enfermedad hemolítica del recién nacido ABO.	84
9.2.3.	Diagnóstico diferencial de la enfermedad hemolítica del recién nacido ABO.	86
9.2.4.	Diagnóstico de la enfermedad hemolítica del recién nacido ABO.	87
9.2.5.	Manejo de la enfermedad hemolítica del recién nacido ABO.	91
9.2.6.	Recomendaciones serológicas en la investigación de la enfermedad hemolítica del recién nacido ABO.	93
9.3.	Aloinmunización materno fetal por Rh ^o (D) y otros antígenos Rh-Hr.	94
9.4.	Comparación de la incompatibilidad ABO con la incompatibilidad Rh ^o (D) y su interacción.	105
9.5.	Enfermedad hemolítica del recién nacido por otros antígenos fuera del sistema ABO y sistema Rh-Hr.	108
9.5.1.	Sistema Kell.	108
9.5.2.	Sistema Duffy.	109
9.5.3.	Sistema Kidd.	110
9.5.4.	Sistema Lewis.	111

9.5.5.	Sistema P.	112
9.5.6.	Sistema MNSs.	113
9.5.7.	Sistema Diego.	114
9.5.8.	Sistema Lutheran.	114
9.5.9.	Anticuerpos maternos contra antígenos de alta <u>inci</u> dencia.	115
9.5.10.	Anticuerpos maternos contra antígenos de baja <u>inci</u> dencia.	116
10.	Hiperbilirrubinemia y kernicterus.	119
11.	Tratamiento de las hiperbilirrubinemias.	129
11.1.	Exsanguinotransfusión.	129
11.2.	Fototerapia.	131
12.	Material y método.	132
12.1.	Pacientes.	132
12.2.	Criterios de diagnóstico.	132
12.3.	Técnicas que se emplean en el estudio de la enfer- medad hemolítica del recién nacido.	135
12.3.1.	Grupo sanguíneo ABO y factor Rh ^o (D).	135
12.3.2.	Grupo sanguíneo ABH en saliva.	137
12.3.3.	Investigación de hemolisinas y aglutininas.	140
12.3.4.	Determinación de anticuerpos IgG contra el sistema ABO.	143
12.3.5.	Anticuerpos libres en el suero fuera del sistema ABO.	150
12.3.6.	Antiglobulina humana directa.	154
12.3.7.	Especificidad del anticuerpo unido a eritrocitos.	157
12.3.8.	Pruebas cruzadas de compatibilidad.	164

13.	Resultados y cuadros.	167
14.	Discusión.	189
15.	Conclusiones.	202
16.	Bibliografía.	204

1. JUSTIFICACION DEL ESTUDIO.

En el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional se han estudiado, diagnosticado y tratado medicamente numerosos casos de niños recién nacidos con hiperbilirrubinemia. En el laboratorio clínico del mismo hospital se ha acumulado la información y frecuentemente surgen dudas y no raras situaciones de frustración porque en muchos de estos casos se encuentran resultados que no son comentados con el servicio clínico y por lo tanto en el laboratorio no se llega a conocer su evolución final.

Por ésto se considero imperativo recolectar la información accesible de los casos referidos al Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional y completarlo con la existente en el propio Hospital de Pediatría.

En este trabajo se analizaron los estudios de los recién nacidos solicitados por el servicio de Neonatología con el diagnóstico de probable Alo inmunización Materno Fetal o Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido, que fueron enviados al Banco Central de Sangre y/o al Laboratorio del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional, del Instituto Mexicano del Seguro Social durante el período 1979-1984.

Se recopilaron 1 004 casos de los cuales 744 fueron enviados al Banco Central de Sangre y 260 al Laboratorio de Pediatría para realizar su estudio; posteriormente se buscaron los expedientes clínicos encontrándose solo disponibles 325 expedientes de los cuales se recabaron una serie de datos que nos dieron la posible causa de la Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido.

2. OBJETIVO.

El proposito del presente trabajo fue analizar los datos de laboratorio de los casos de recién nacidos recibidos en el laboratorio clínico del Hospital de Pediatría con diagnóstico de Hiperbilirrubinemia por probable Aloinmunización Materno Fetal y correlacionarlos con algunos datos clínicos para precisar su trascendencia. Así como la revisión de los Sistemas de Grupo Sanguíneo Eritrocitario involucrados en este problema.

3. ANTECEDENTES.

La ictericia, o sea la coloración amarilla de la piel y mucosas producida por el aumento patológico de la bilirrubina circulante, responde siempre a una alteración en alguno de los pasos metabólicos que se inicia con la destrucción de la hemoglobina a nivel del sistema reticulo endotelial, su posterior transformación en bilirrubina libre, su transporte plasmático, captación, conjugación glucurónica y excreción por el hepatocito y por último su recorrido canalicular intra y extrahepático hasta llegar al duodeno. Cuadro número 1. (19).

La ictericia se presenta en aproximadamente el 60% de los recién nacidos y por lo general es de poca intensidad. En el niño prematuro se presenta con una frecuencia aproximadamente del 75-80% de los cuales alrededor de 15-20% pueden presentar hiperbilirrubinemia. (33).

La bilirrubina producida se encuentra en dos formas principalmente, la bilirrubina conjugada que es la que está unida a la albúmina para ser metabolizada y eliminada de la circulación posteriormente, y la bilirrubina indirecta que es la que no se encuentra unida o ligada a la albúmina. Esta última puede aumentar a tal grado que se considera como una de las causas por la cual un recién nacido es retenido en el hospital, o después de unos días de nacido es llevado a éste. La hiperbilirrubinemia indirecta (no ligada) se puede presentar por muchas causas, entre las cuales se pueden encontrar las siguientes:

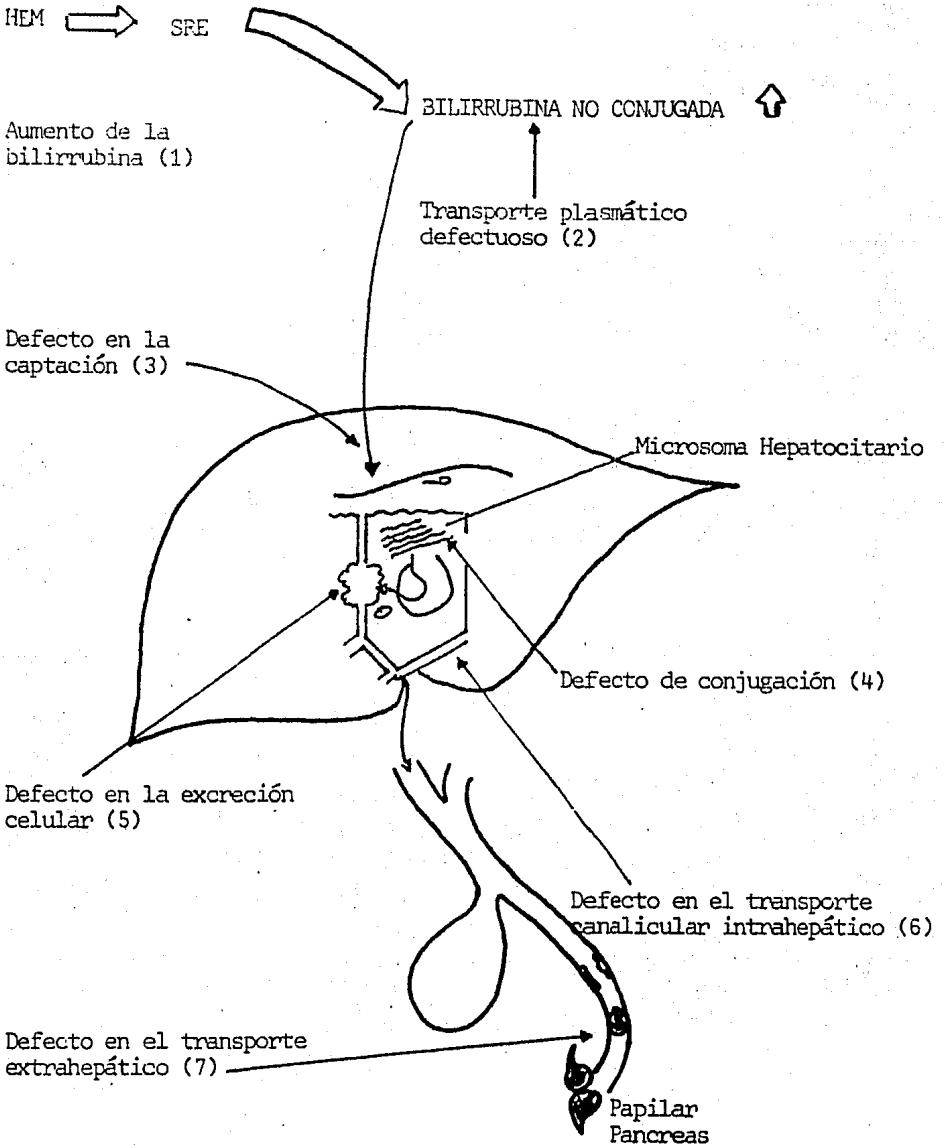
1.- Ictericia fisiológica.

2.- Anormalidades en la morfología de los eritrocitos.

- Esferocitosis hereditaria.

CUADRO Nº. 1

CAUSAS DE HIPERBILIRRUBINEMIA



CONTINUACION DEL CUADRO Nº. 1.

1.- Hiperhemólisis.

2.- Ictericia del recién nacido.
Drogas competitivas (sulfas).

3.- Ictericias post-hepáticas.
Ictericia de la colecistografía o del ácido flavaspídico (Extracto etéreo del helecho macho).

4.- Deficiencia de la glucuronil transferasa.
- Completa. Crigler-Najjar.
- Parcial. Enfermedad de Arias.
- Enfermedad de Gilbert.

Inhibidores de la conjugación.

- ϕ -pregnanediol.
- Hepatitis.

5.- Enfermedad hepatocelular.

Colestasis.
- Hepatitis.
- Alcohol.
- Drogas.
- Esteroides.
- Anticonceptivos.
- Dubin-Johnson.
- Rotor.
- Cirrosis biliar.

6.- Metastasis.

Tumores.
Quistes.
Granulomas.

7.- Litiasis.

Estenosis de la vía biliar.
Carcinoma.

(19).

- Eliptocitosis hereditaria.
- Estomatocitosis hereditaria.
- Picnositosis infantil.

3.- Hemoglobinopatías.

4.- Defectos en la síntesis de hemoglobina.

- Hemoglobina de Barts (α -talasemia).
- Hemoglobinas inestables (anemia por cuerpos de Heinz hereditaria).

5.- Deficiencia enzimática de las células rojas.

Enzimas glicolíticas.

- Hexocinasa.
- Fosfoglucosa isomerasa.
- Fosfofructo cinasa.
- Fosfato triosa isomerasa.
- 2,3-difosfo glicerato mutasa.
- Fosfoglicerato cinasa.
- Piruvato cinasa.
- Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.
- 6-fosfogluconato deshidrogenasa.
- Galactosa-1-fosfato uridil transferasa.

Enzimas no glicolíticas.

- Glutación reductasa.
- Glutación peroxidasa.
- Glutación sintetasa.
- ATP-asa.
- Adenilato cinasa.

6.- Alteraciones metabólicas.

- Galactosemia.
- Síndrome de Cligle-Majjar.
- Ictericia por leche materna.
- Hiperbilirrubinemia neonatal transitoria familiar.
- Diabetes materna.

7.- Drogas y Toxinas.

- Vitamina K.
- Naftaleno.
- Novobiocina.

8.- Infecciones.

- Bacterial.
- Viral (enfermedad por inclusión citomegálica, hepatitis, rubiola congénita, y herpes simple diseminado).
- Toxoplasmosis.
- Sífilis.

9.- Reabsorción de grandes hematomas.

10.- Miscelaneas.

11.- Ictericia del recién nacido por aloimmunización materno fetal.

- Aloimmunización ABO.
- Aloimmunización Rh-Hr.
- Aloimmunización por otros grupos sanguíneos.
- Anemia hemolítica autoinmune materna.

(7), (79).

3.1. ICTERICIA FISIOLÓGICA.

La ictericia fisiológica se presenta en casi todos los recién nacidos normales, en donde la concentración de la bilirrubina en el suero se eleva durante los primeros días de nacido. Esta elevación es debido principalmente a la deficiencia enzimática de la glucuronil transferasa del hígado que conjuga a la bilirrubina con el ácido glucurónico para formar el diglucuronido de bilirrubina que es soluble en agua. (2), (47), (72). Pudiendo alcanzar un máximo en niños de término de 10 mg/dl a los 3 ó 4 días de nacido. (2), (72).

Hsia y cols. determinaron que la concentración de bilirrubina en suero para niños de término en promedio fue de 7.1 mg/dl y en muy pocos casos se elevaron hasta 13.5 mg/dl, y en niños prematuros (2 250 g) el promedio fue de 11.2 mg/dl y en unos pocos niños subieron a 15.0 mg/dl. (47).

Billing y cols. dividieron a los niños según su peso al nacer encontrando que en niños con peso de 3 859 a 4 313 g el máximo de bilirrubina fue en promedio de 3.0 mg/dl y en niños con peso de 1 135 a 1 589 g el promedio máximo fue de 14 mg/dl. (47).

Ambos grupos enfatizaron que la concentración máxima de bilirrubina era mayor en niños prematuros que en niños a término. De los recién nacidos a término el 9.7% (1968) pudieron alcanzar niveles de bilirrubina de 20.0 mg/dl mientras que del 9-10% de los niños prematuros alcanzaron estos niveles. (47).

Los niveles de bilirrubina en sangre de cordón fueron de 0.7-3.1 mg/dl. cuando estos niveles se elevan a 4.0 mg/dl o más son indicativos de exsanguinotransfusión. La concentración de bilirrubina en suero para desa-

rollar kernicterus, se presenta con mayor frecuencia en los niños prematuros que en los niños de término y para prevenirlo se debe de exsanguinar a los niveles de bilirrubina de 18 mg/dl o menores. (47).

3.2. ANORMALIDADES EN LA MORFOLOGIA DE LOS ERITROCITOS.

En este tipo de alteraciones hay destrucción aumentada de los glóbulos rojos debido a un defecto en la membrana eritrocitaria, que no se conoce y que se puede presentar en diferentes etapas de la vida. (79).

Las características principales son la anemia, ictericia, crisis, esplenomegalia y el desarrollo de una obstrucción biliar; las menos comunes incluyen lesiones crónicas de las piernas y anomalías óseas. (79).

La severidad de la anemia varía de un paciente a otro y cuando la enfermedad es muy severa se detecta poco después del nacimiento, pero puede permanecer insospechada hasta la vida adulta a menos que la ictericia, "una crisis" o las complicaciones de una enfermedad vesicular llamen la atención. A veces, estos casos se descubren solamente con el estudio familiar. (79).

En algunos casos la ictericia se detecta en el período neonatal y junto con la anemia simulan la enfermedad hemolítica del recién nacido que puede causar kernicterus, por lo que en ocasiones se lleva a cabo la exsanguinotransfusión. (79).

De estas anemias hemolíticas la más estudiada es la esferocitosis hereditaria que se caracteriza por un grado variable de anemia, esplenomegalia, esferocitosis y aumento de la fragilidad osmótica de los glóbulos rojos, así como por ictericia, a menudo de grado leve y acolúrica. (79).

Esta afección se puede presentar después del nacimiento, a las 36 h o hasta la ancianidad. Cuando se presenta en el nacimiento la prueba de antiglobulina directa es negativa, los glóbulos rojos son de diferente espesor, casi esferas, por lo cual cuando pasan por el bazo y los pequeños vasos se destruyen debido a que son muy rígidos. (79).

En la eliptocitosis hereditaria el número de formas elípticas de los eritrocitos del recién nacido aumenta gradualmente hasta que cumplen 3 ó 4 meses de edad, en que se estabiliza. En el período neonatal se ha observado hemólisis e hiperbilirrubinemia que han requerido de exsanguinotransfusión; en este momento, el cuadro morfológico puede semejarse mas a una picnocitosis. La prueba de Coombs es negativa y desarrollan anemia. (79).

La estomatocitosis también se puede presentar en los recién nacidos y se caracteriza por la presencia de "estomatocitos" en la sangre, encontrándose que son de 20 a 40 veces más permeables a los iones sodio y potasio que los hematíes normales. (79).

La picnocitosis infantil se refiere a la afección en la que se encuentran los glóbulos rojos distorcionados, semejantes a espuelas, causadas probablemente por factores extracorpúsculares, en algunos casos se puede semejar a una eritroblastosis fetal, con una anemia e ictericia que requieren de exsanguinotransfusión. (79).

3.3. HEMOGLOBINOPATIAS.

Las hemoglobinopatías son alteraciones de la hemoglobina en su estructura. La gran mayoría de las hemoglobinas anormales difieren de la normal en que se sustituye un aminoácido por otro. En la hemoglobina S, por ejem-

plo, la valina es reemplazada por el ácido glutámico en el sexto aminoácido del extremo N-terminal de la cadena β de la hemoglobina. Se han descrito muchos otros ejemplos de este tipo de sustitución, de acuerdo a la mutación que se lleve a cabo en algunas de las cadenas (α , β , δ , ϵ). Se han informado muchas más variantes de la cadena β que de la cadena α posiblemente porque las anomalías severas de las cadenas α causan muerte fetal precoz, y es menos probable su descubrimiento. (79).

La anemia drepanocítica es la enfermedad en donde se heredan los dos genes de hemoglobina S (HbS) de los progenitores. El gen de la HbS es de frecuencia variable en Africa por debajo del Sahara, en los países del Mediterráneo, en la India, en los negros que emigraron a América del Sur, Centro y Norte, (79), y los procedentes de la costa de Veracruz, Guerrero, Tabasco y Chiapas. (11). Cuando se hereda de un solo progenitor, la HbS produce efectos nocivos solamente en circunstancias especiales, cuando se hereda de ambos progenitores da como resultado una anemia hemolítica crónica severa (anemia drepanocítica). (19), (79).

Los síntomas varían considerablemente en severidad de un paciente a otro, pero son, esencialmente, los atribuibles a la anemia crónica severa y a los episodios vasculares oclusivos. La alteración se distingue por la presencia de poiquilocitosis peculiares, comúnmente con forma de hoz o de grano de avena. (19), (79).

Se ha estimado que alrededor de un tercio de la destrucción celular total en la anemia drepanocítica se produce intravascularmente. Probablemente esta hemólisis represente el desprendimiento de los microfilamentos y la fragmentación celular progresiva, a medida que el drepanocito relati-

vamente rígido atraviesa la microcirculación. La hemólisis extravascular es la responsable de los dos tercios restantes del proceso destructivo. (79).

Los pacientes con anemia drepanocítica tienen un aumento en la susceptibilidad a las infecciones por ciertas bacterias y otros agentes infecciosos. Los sitios más comúnmente comprometidos son los pulmones, el tracto genitourinario, los huesos y articulaciones, y los menos frecuentes la piel, y el sistema nervioso central. (79).

Comúnmente, los síntomas de la anemia drepanocítica se evidencian por primera vez durante la segunda mitad del primer año de vida. La falta de síntomas durante la vida intrauterina y el período postnatal inmediato se debe a la presencia de cantidades de hemoglobina fetal más grande que la que se encuentra posteriormente. A medida que se establece el patrón adulto, la hemoglobina y la proporción de cadenas β anormales aumenta, el individuo se hace cada vez más susceptible a los hechos fisiopatológicos que producen los síntomas clínicos. Alrededor de los seis meses de edad, las células del niño han adquirido el complemento adulto de HbS. Existe, sin embargo, alguna variación en la edad de comienzo de los síntomas; que va desde los tres meses hasta los 15 años. Así como la edad, varía la severidad de la enfermedad. (79).

La incidencia de nacimientos prematuros está aumentada y el peso al nacer de los niños viables está disminuido. Las mujeres con anemia drepanocítica que se embarazan tienen un mayor riesgo de pérdida fetal por abortos y recién nacidos muertos, debido a las complicaciones durante los primeros seis meses de embarazo. (79).

Se encuentran también otras hemoglobinopatías como son la HbC, la HbD, la HbE, y la HbO, y sus combinaciones con la HbS; todas estas hemoglobinopatías tienen hemoglobinas anormales que son defectos heredados. (79).

3.4. DEFECTOS EN LA SINTESIS DE HEMOGLOBINA.

Otras alteraciones moleculares que pueden ocasionar ictericia en el recién nacido, son las talasemias, siendo éstas de un grado heterogéneo, producida por la alteración en la síntesis de hemoglobina habiendo una disminución en la velocidad de síntesis de una o más de las cadenas polipeptídicas. (79). Se han encontrado casos de talasemia concentrados en una zona de población italiana situada en el estado de Puebla. (11).

El α -talasemia homocigota da como resultado un hydrops fetal, debido a que las cuatro cadenas polipeptídicas de la hemoglobina son δ_4 (Hb de Bart) o β_4 (HbH), que presentan una afinidad muy elevada por el oxígeno. (2), (79). Cuando la alteración involucra la producción de las cadenas δ , β , y δ se presenta la enfermedad hemolítica al nacer con una anemia hipocrónica severa, eritroblastosis e ictericia. En los recién nacidos heterocigotos para la talasemia combinada ($\delta\beta\delta$) la hemólisis es severa. (53).

La hemólisis y la anemia comienzan muy tempranamente en la vida fetal, casi a las 10 semanas de gestación, debido a la producción insuficiente de las cadenas δ . La hipoxia intrauterina puede seguir siendo la causa del menor peso al nacer en muchos de los niños afectados. (53).

El cuadro clínico de este tipo de alteraciones puede variar en todos los nacimientos, el grado de hemólisis y la anemia puede ocasionar mortinatos con hidrops fetal. (53).

Los síntomas neonatales principalmente causados por la deficiencia en la síntesis de las cadenas de hemoglobina son: Hipocrómia, microcitosis, células en blanco de tiro y normoblastos en la extensión sanguínea. (53). (72).

3.5. DEFICIENCIA ENZIMÁTICA DE LAS CELULAS ROJAS SANGUINEAS.

La deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) es una de las enfermedades hemolíticas más comunes ligada al cromosoma X que puede desarrollar una hemólisis aguda en todas las situaciones en las cuales hay un "stress" oxidante, tales como exponerse a ciertas drogas, infecciones virales y bacterianas, acidosis diabética y la ingestión de la semilla fava (favitis). (43), (75), (79).

Se conoce que el papel de la G6PD es suministrar NADPH para mantener el glutatión reducido, los pocos niveles enzimáticos pueden reducir la glutatión transferasa-S, (43), y su deficiencia en los eritrocitos predispone para el riesgo de la hiperbilirrubinemia neonatal severa, (43), (44), de una gravedad que puede ocasionar kernicterus. (69). En algunos casos la hiperbilirrubinemia neonatal puede ocurrir junto con anemia severa y requerir de exsanguinotransfusión. (43). Los casos de deficiencia de G6PD están concentrados en las comunidades israelitas y en las costas donde hubo inmigración africana. (11).

La ictericia en estos niños tiende a ser más severa y prolongada hasta las dos semanas de vida y no influye la manera del nacimiento, la forma de parto, la manera de alimentarse, o el sexo para los niveles de bilirrubina. Hay una tendencia de ictericia severa al aumentar su velocidad de he

mólisis en ausencia de agentes hemolíticos. (69).

Hay una correlación estrecha entre la actividad enzimática y el porcentaje de eritrocitos deficientes de G6PD, se reporta un aumento en la incidencia en neonatos ictericos en Africa, Asia, Jamaica, así como en el Mediterráneo, (75), encontrandose en este último grupo no sólo la deficiencia de G6PD en los eritrocitos, sino también en otras células nucleadas como leucocitos y células epiteliales, aunque, con diferentes niveles de expresión. (43), (72). Se ha reportado que los niveles de actividad enzimática abajo de 4 UI/g de hemoglobina o porcentaje de eritrocitos con deficiencia de G6PD más altos del 40% indican un mayor desarrollo de hiperbilirrubinemia. (43). Por lo cual, se ha visto la necesidad de dar tratamiento profilactico a fin de resolver o por lo menos limitar esta patología; Meloni y cols. han propuesto un esquema de tratamiento con fenobarbital, para los neonatos con hiperbilirrubinemia por deficiencia de G6PD. (22).

Meloni y cols. estudiaron la deficiencia de G6PD en Sardena encontrando que el 12% de las niñas y el 8% de los niños tenían ictericia por deficiencia de G6PD. (22).

Se ha reportado que la ictericia neonatal moderada y/o severa puede encontrarse asociada a la deficiencia de G6PD con hemoglobinas anormales. Esta incidencia es menor en recién nacidos mexicanos en comparación con otras poblaciones y no es un problema de salud pública. Se reporta que el 1.25% de los niños con ictericia neonatal tienen deficiencia de G6PD, por lo cual se recomienda hacer una consideración en el diagnóstico estudiando los recién nacidos ictericos. (75).

El riesgo de hiperbilirrubinemia neonatal severa asociada con la defi

ciencia de G6PD varía en diferentes poblaciones y regiones, así como los factores genéticos y el medio ambiente tienen cierta influencia. (44).

El α -talasemia es uno de los factores genéticos que influyen en la ictericia neonatal asociada con la deficiencia de G6PD, aunque no se demuestra ningún incremento de la incidencia o gravedad de la hiperbilirrubinemia comparada con los recién nacidos que tienen solamente el defecto enzimático. (44).

Otros factores genéticos que influyen en este padecimiento es la disminución de la capacidad del ácido glucurónico para conjugar la bilirrubina en el espacio libre del hígado, o la asociación de la fosfatasa ácida eritrocitaria, junto con los factores del medio ambiente juegan un papel importante, (44).

La deficiencia de piruvato cinasa (PK) en las células rojas sanguíneas es otra de las causas de anemia hemolítica debido a un defecto enzimático en el camino glicolítico, el grado de anemia y hepatoesplenomegalia al nacer es un indicio de la severidad de la anemia hemolítica. (25).

La variación de la severidad en la enfermedad es muy notable, ya que va desde una ictericia neonatal pronunciada que requiere de transfusiones simples hasta exsanguinotransfusiones, (25), (79), a un proceso hemolítico de tal grado que ocasione la muerte intrauterina, (25), o bien tener un proceso hemolítico completamente compensado en los adultos. (79).

A las familias afectadas por esta enfermedad se les deben de controlar para prevenir el kernicterus, y cuando sea necesario efectuar la exsanguinotransfusión; y presentan una prueba de Coombs negativa. (79).

3.6. ALTERACIONES METABOLICAS.

Ciertos casos de ictericia transitoria en la primera semana de vida pueden ser originados por la presencia en el suero de sustancias inhibidoras de la conjugación de la bilirrubina siendo debido al paso de sustancias tipo estrogénico (pregnanodiol) por vía transplacentaria. Estas mismas sustancias podrían estar contenidas en la leche materna, lo cual, sin embargo no ha podido demostrarse. (19).

Se cree que el pregnanodiol puede inhibir la enzima glucuronil transferasa e impedir así la conjugación de la bilirrubina. (2).

3.7. DROGAS Y TOXINAS.

La enfermedad hemolítica del recién nacido también puede resultar cuando hay un deficit de vitamina K en el neonato en el momento de nacer. (79).

En el recién nacido normal, hay un déficit moderado pero significativo de los factores de la coagulación vitamina K-dependientes (protrombina, factor VII, IX, y X) que generalmente no se manifiesta, pero cuando las anomalías de la coagulación se acentúan, se produce hemorragia y por lo tanto enfermedad hemolítica del recién nacido. (79).

Los factores que disminuyen más la cantidad de vitamina K y que predisponen a la enfermedad hemolítica son: prematuridad, ingesta dietética inadecuada, retraso de la colonización intestinal bacteriana, déficit materno de vitamina K y diversas complicaciones obstétricas y perinatales. (79).

Los niveles de los factores de vitamina K-dependientes en el momento de nacer son aproximadamente proporcionales a la edad gestacional y el pe-

so al nacimiento. La mayoría de los factores asociados a la ingesta deficiente de vitamina K retrasan la colonización del intestino por bacterias. Estos incluyen alimentación demorada, alimentación con pecho, vómitos, diarrea severa, y antibióticos, inclusive aquellos presentes en la leche materna. (79).

El parto traumático, especialmente, si se asocia a hipoxia prolongada y otras complicaciones obstétricas y perinatales, pueden predisponer a la enfermedad hemolítica del recién nacido, presumiblemente por deterioro de la función hepática. Las drogas cumáricas e indanediónicas, así como la difenilhidantoina, atraviesan la placenta y pueden producir la enfermedad hemolítica del recién nacido. (79).

3.8. INFECCIONES.

La infección prenatal adquirida por el feto de la madre durante la gestación y por vía diaplacentaria puede producir la muerte fetal y aborto o manifestarse al nacer con el parto de un feto muerto a término. En la toxoplasmosis este accidente no se repite con los embarazos subsecuentes, ya que solo ocurre en madres que han contraído la infección en plena gestación. (19).

La infección fetal adquirida in útero no siempre acarrea la muerte del feto y puede manifestarse después del nacimiento. El cuadro es entonces el de una encefalitis infantil con convulsiones, micro o hidrocefalia, meningismo, calcificaciones cerebrales múltiples, estrabismo y numerosos signos de afectación ocular. La sintomatología se inicia a las pocas semanas de la vida, casi siempre en el segundo trimestre. (13).

Si el feto es infectado tardíamente puede ofrecer formas abortivas con ictericia, hepatoesplenomegalia, convulsiones y erupciones cutáneas postparto. Afortunadamente abundan las formas inaparentes o benignas. La toxoplasmosis congénita es un accidente único en la familia. Los hijos que nacen ulteriormente no están nunca enfermos. La madre, después del embarazo, queda inmunizada. (19).

3.9. MISCELANEAS.

Hay varias alteraciones propias del recién nacido y del lactante que pueden asociarse a la coagulación intravascular diseminada (CID). Aparentemente, la causa del CID de los niños nacidos de madres con CID debido a abrupcio placentae, toxemia o septicemia, es el pasaje transplacentario de tromboplastina u otras sustancias activadoras. El desarrollo de CID en un recién nacido, después de la muerte intrauterina de un gemelo, se atribuye al pasaje "fetofetal" de tromboplastinas, y es secundaria a hemangiomas gigantes y púrpura fulminante. En los recién nacidos con enfermedad hemolítica se notan ciertos hallazgos sugestivos de CID, pero se carece de estudios detallados. (79).

Los complejos antígeno-anticuerpo producen agregación plaquetaria y activan el factor XII in vitro y se ha sugerido que tales complejos o las reacciones antígeno-anticuerpo citotóxicas, desempeñan un papel importante en la CID asociada a las reacciones anafilácticas agudas, la púrpura fulminante y las transfusiones de sangre incompatible. (79).

4.0. ICTERICIA DEL RECIEN NACIDO POR ALOINMUNIZACION MATERNO FETAL.

La ictericia ocasionada por anticuerpos en el recién nacido es debido a la destrucción masiva de sus eritrocitos, provocada por la reacción antígeno-anticuerpo entre sus glóbulos rojos y los anticuerpos que se encuentran en su circulación y que son de la madre. De esta reacción resultan diferentes grados de hemólisis y por lo tanto diferentes grados de ictericia y gravedad en el recién nacido.

4.1. HISTORIA.

La ictericia de los recién nacidos fue descrita primeramente por diferentes autores desde el siglo XVII; estas personas se fijaron en la similitud que había entre la ictericia adulta y la del recién nacido debido a la oclusión del conducto biliar. (6).

En 1609 Lanyse Bourgeois observó que varios niños nacidos consecutivamente de los mismos padres nacían afectados con la misma enfermedad. (6).

De estas observaciones nace la inquietud de los investigadores, para determinar el por qué ocurría la misma enfermedad en todos los niños (o casi todos) de los mismos padres. (6).

En 1875 Landois fue el primer investigador que inicia el estudio sobre los grupos sanguíneos con la observación que hizo cuando mezcló glóbulos de una especie con el suero de otra especie, produciéndose un fenómeno de aglutinación o hemólisis cuando se incubaban a 37°C. (41), (47).

En 1900 Ehrlich y Morgenroth, observaron este mismo fenómeno pero en animales de la misma especie, demostrando así las diferencias serológicas entre la sangre de diferentes miembros de la misma especie; determinando

así los aloantígenos y provocando la formación de anticuerpos hemolíticos "isohemolisinas". (41), (47), (81).

En 1901 Landsteiner demostró que en sujetos humanos había anticuerpos que ocurrían naturalmente -isoaglutininas- que reaccionaban con las células rojas de algunos sujetos humanos, describiendo así por primera vez la existencia de diferencias serológicas en los individuos, basándose en dos antígenos que denominó A y B, la ausencia de ambos nos da el grupo 0 para formar tres grupos sanguíneos y así nace el primer sistema de grupo sanguíneo; mencionando también que los grupos sanguíneos son sistemas heredados de determinantes antigénicos sobre la superficie de los eritrocitos. (24), (41), (47), (79), (81).

En 1902 Decastello y Sturly demostraron la existencia de ambos antígenos A y B en las células de un mismo individuo encontrándose así el cuarto grupo sanguíneo del sistema ABO denominándose grupo AB. (80), (81).

En 1926 Landsteiner y Witt demostraron aglutininas débiles activas a temperaturas menores de 37°C. En este mismo año y en el siguiente Landsteiner y Levine demuestran tres nuevos antígenos humanos, el primero de ellos fue el M, luego N y P. Posteriormente Ss. (41), (47), (81).

En 1937 Landsteiner y Wiener y en 1939 Wheeler y Stuart inmunizan conejos con células de monos Rhesus observando que los anticuerpos formados aglutinan las células que contenían el antígeno M humano. (6).

En 1938 Ruth Darrow menciona un caso de ictericia grave en un neonato e hizo una hipótesis basada en la reacción antígeno-anticuerpo entre la madre y el feto. Ella supone que la hemoglobina fetal puede ser inmunológicamente diferente a la de los adultos y sensibilizar a la madre, resultando

así la formación de anticuerpos que pueden cruzar la placenta y destruir los eritrocitos fetales. Describió también la posibilidad de que tuvieran diferentes grupos sanguíneos madre y feto. (6).

En 1939 Levine y Stetson describieron una fuerte reacción hemolítica muy severa de una mujer que dió a luz un niño muerto debido a que le transfundieron sangre de su marido; con ésto sugirieron que el feto tiene la capacidad de inmunizar a la madre cuando adquiere el antígeno del padre y no lo tiene la madre, pudiendo ser el resultado de la producción de los anticuerpos. (6), (79).

En 1940 Landstainer y Wiener descubrieron otro antígeno cuando inyectaron conejos o puercos de guinea con células rojas de monos rhesus, probando el suero contra las células rojas humanas, denominando el antígeno "Rh" y naciendo el sistema "Rhesus". (6), (24), (41), (47), (81).

Wiener y Peters demostraron que el anticuerpo Rh era el responsable de una reacción transfusional semejante como la descrita por Levine y Stetson en 1939. (6). Por otro lado Landstainer y Wiener describieron el antígeno LW. (79).

En 1941 Levine y cols. encontraron que el anticuerpo anti-Rh^o(D) estaba asociado con el embarazo, debido a que las madres Rh negativas eran inmunizadas por el feto cuando éste heredaba el antígeno del padre sensibilizando a la madre y ocasionando la enfermedad hemolítica del recién nacido. (6), (47).

En 1943 Levine observó que en matrimonios de madres Rh negativas que tenían niños con enfermedad hemolítica del recién nacido eran más afectadas que aquellas que además se les agregaba la incompatibilidad ABO; o sea,

que las células fetales fueron primeramente destruidas por los anticuerpos anti-A o anti-B maternos antes de que la sensibilización por el antígeno Rh^o(D) pueda tomar lugar. (6), (7).

En 1944 Halbrecht sugirió que la ictericia neonatal que ocurre en las primeras 24 h de vida puede ser debido a incompatibilidad ABC. (7), (13), (52). En éste mismo año Wiener y Race independientemente describieron y explicaron que había un anticuerpo oculto que fue llamado "bloqueador" por Wiener e "incompleto" por Race, esto fue debido a que los anticuerpos anti-Rh^o(D) frecuentemente no se podían detectar en el suero materno cuando se usaba un anticuerpo aglutinante. (6).

En 1945 Coombs y cols. desarrollaron un método para probar el suero y ver si encontraban algún anticuerpo que pudiera estar presente, y en el caso del Rh ver si los sitios del antígeno D están cubiertos, esto es si han sido "bloqueados". (6). En este mismo año Callender, Race, y Paykoc describieron el antígeno Lu^a y Lu^b. (41), (81).

En 1946 el antígeno Rh C^w fue descrito por Callender y Race y un año después por Lawler y Loghem. (45). Mourant describe el anticuerpo anti-Le^a. (79), (81). También Stratton en este año describe el tipo sanguíneo D^u. (47). Se describió también el grupo sanguíneo Kell. (81).

En 1947 Morton y Pickle describieron un nuevo método para detectar anticuerpos anti-Rh incompletos, usando tripsina, esta enzima vuelve aglutinables los eritrocitos con los anticuerpos incompletos. (6). En este año se describe también el anticuerpo anti-S y más tarde el anti-s. (79).

En 1948 Andersen describe el anticuerpo anti-Le^b. Sin embargo, Landstainer y Levine fueron probablemente los primeros en describir un ejemplo

de anti-Le^a. (79), (81).

En 1950 Race y Sanger proponen que la incompatibilidad ABO puede en realidad ser protector contra la inmunización Rh. Más tarde, la hipótesis de Race es apoyada por Nevanlinna y Vainio (1956) y Clarke y cols. (1958). (6). En este año también se buscaron parámetros que pudieran dar un índice del estado de gravedad de la enfermedad hemolítica del recién nacido. Bevis demostró que el líquido amniótico contenía cantidades incrementadas de hierro y que correspondía al grado de severidad de la enfermedad hemolítica del feto. (6).

En 1951 Allen y cols. descubrieron el antígeno del grupo sanguíneo Jk^a del sistema Kidd. (36), (41), (81), y la sensibilización feto-materna debido a los antígenos pertenecientes al sistema MN fue descrita por Birchil. (77).

En 1952 se describe un nuevo sistema, el Duffy por Cutbush y cols. (41), (81). Bevis demostró que la relación de la concentración de bilirrubina y la densidad óptica en líquido amniótico determinado en el período prenatal proporcionaba buena información. (6).

En 1953 Wiener y cols. demostraron un anticuerpo fuera del sistema ABO y del anticuerpo Rh^o(D) que ocasionó una reacción transfusional hemolítica fatal al igual que la enfermedad hemolítica del recién nacido. Este anticuerpo fue el anti-U. (10), (14), (48). Por otro lado Plant y cols. reportaron el antígeno Jk^b. (36).

En 1955 Rosenfield reportó el primer estudio con la prueba de antiglobulina directa dando positiva e identificando un grupo de niños con incompatibilidad ABO, demostrando la evidencia en el laboratorio de la enferme-

dad hemolítica debido a los alcanticuerpos detectados en los eritrocitos y notando que hay una marcada preponderancia de las madres del grupo O para tener niños con enfermedad hemolítica del recién nacido por el sistema ABO. (8), (13).

En 1958 Cremer y cols. observaron que con fototerapia se ayudaba a de tener la ictericia, pero ésto era mas usado en la ictericia por prematuridad que en la ictericia ocasionada por la enfermedad hemolítica del recién nacido por el sistema Rh^o(D). (6).

En 1959 Penkerton y cols. describieron el primer ejemplo de un fenotipo Jk(a- b-). Un individuo que posee dos genes Jk es capaz de producir un anticuerpo denominado Jk³ que es causante de enfermedad hemolítica leve del recién nacido. (36). También Stones y Morsh describieron un embarazo gemelar con ictericia ocasionada por un anticuerpo anti-M. (77).

En 1960 Mollison, Cutbush, y otros mencionan que teniendo un niño con enfermedad hemolítica del recién nacido ABO puede tener mayor riesgo los siguientes niños. Wiener estableció que "una vez ocurrida" la enfermedad hemolítica del recién nacido ABO en una familia, con excepción rara todos los niños siguientes son afectados a menos que ellos sean de grupo O. (35). Sin embargo Finn menciona que hay una protección para el feto cuando hay una incompatibilidad ABO, contra la enfermedad hemolítica del recién nacido Rh^o(D). (6).

En 1961 Liley realizó una curva de absorción espectral en la cual la densidad óptica del líquido amniótico a 450-460 nm se encuentra entre 0.05 y 0.02 en embarazos normales entre las 30 semanas y a término. Al ir aumentando la densidad óptica del líquido amniótico va aumentando la severidad

de la enfermedad en el recién nacido. (6), (47).

En 1963 Liley observo que las muertes perinatales ocasionadas por la enfermedad hemolítica del recién nacido por el sistema Rh^o(D) habían disminuido con las exsanguinotransfusiones. (6).

En 1964 Freda y cols. usaron la gammaglobulina anti-Rh 7S para una inmunización pasiva para las madres Rh negativas obteniendo buenos resultados. (6).

En 1965 Clarke, Woodrow, y cols. postularon que para prevenir la aloinmunización por el antígeno Rh^o(D) se debía de dar la gammaglobulina inmediatamente después del parto o a los pocos días de éste. (6).

En 1967 Grundbacher demostró que la edad y el sexo, en la población humana tiene un efecto en la producción de las alohemolisinas y aloaglutininas anti-A y anti-B. (27), (47).

En 1968 Grundbacher demostró también que los estados secretores ABH de los niños no tienen ningún efecto en los niveles de aloanticuerpos de la madre. (27). En este mismo año Giblett, Fraser y Tovey encontraron otro anticuerpo que ocasionaba enfermedad hemolítica del recién nacido, el anticuerpo anti-c y posteriormente fue comprobado por Hardy y Napier. (15).

En 1970 Clarke y cols. demostraron que por medio de la plasmaferesis se disminuía el título de anticuerpos maternos. (6).

En 1975 Molthan y Moulds describieron un nuevo anticuerpo del grupo sanguíneo llamado McCoy. (20).

Junto con todas estas investigaciones se descubrió que hay una alteración en los factores de coagulación en los recién nacidos que cursaban con la enfermedad hemolítica del recién nacido. (31).

En 1979 Bierne y cols. y en 1981 Beer y cols. mencionaron que con cápsulas orales conteniendo las membranas de muchas células rojas Rhesus positivas, el título de anticuerpos en mujeres que han sido inmunizadas contra el antígeno D puede ser reducido. (6).

Después de haber revisado en forma cronológica algunas causas de ictericia en el recién nacido y de haber mencionado la formación de anticuerpos por la madre contra antígenos eritrocitarios fetales, se revisarán algunas características de éstos, pertenecientes a los diferentes grupos eritrocitarios.

5. PROPIEDADES GENERALES DE LOS DIFERENTES SISTEMAS DE GRUPO SANGUINEO ERI TROCITARIO.

Los eritrocitos humanos contienen más de 100 sustancias antigénicas que pueden ser clasificadas dentro de los diferentes grupos sanguíneos; (49); entre los cuales encontramos el sistema ABO, el sistema Rh-Hr, el sistema MNS, el sistema P, y otros menos frecuentes. (42).

La mayoría de los antígenos están en la estructura de la superficie de los eritrocitos. La membrana de las células rojas está representada por el modelo de mosaico fluido de Singer y Nicolson (1972). Este modelo representa la porción hidrofóbica de una colección heterogénea de proteínas globulares encajadas en una matriz de fosfolípidos. (47), (49).

Las moléculas de glicoproteínas que contienen un mínimo de ácido siálico (ácido N-acetil muramínico), están muy bien sujetadas a los lípidos siendo ésta una forma de proteger la superficie, como si fuera una varilla ligada a la estructura (Winzler, 1969). (47).

Los antígenos solubles (glicoproteínas) A, B, y H, se encuentran en todos los individuos que contienen el gen secretor Se en abundante proporción en sus secreciones, semejantes como pseudomucina de ovarios, líquido cístico, mucina gástrica, y otras secreciones del cuerpo, que pueden ser tan bien caracterizadas por sus propiedades de grupo sanguíneo. (42), (79), (81).

Las diferentes sustancias A, B, H, y Le, son producidas como resultado de cambios enzimáticos secuenciales de un precursor de glicoproteínas. (24), (79). Se han reportado variaciones de los antígenos ABH durante el embarazo, ya que hay una disminución en los niveles de transferasas N-ace-

til-D-galactosamina y α -D-galactosil transferasa, debido a cambios hormonales que se producen y correlacionan con los cambios que sufre la membrana en sus glucoproteínas y glucolípidos. (8).

La composición química de las sustancias A, B, y H secretadas y de la sustancia Lewis es notablemente similar. Ambas se componen de una fracción de hidratos de carbono que es aproximadamente del 85% del total de la molécula y el 15% es de aminoácidos. Son heterodispersos, con un peso molecular de 300 000. (24), (77). Estas sustancias consisten en un centro polipeptídico con múltiples cadenas de oligosacáridos insertados en el esqueleto peptídico con enlaces glucosídicos. La mayoría están insertados por un residuo de N-acetil-D-galactosamina. (24).

Los peptidos residuales están compuestos siempre por los mismos 15 aminoácidos; 4 de éstos son -treonina, serina, prolina, y alanina-, y constituyen los dos tercios de todos los aminoácidos presentes. Los péptidos, al parecer, tienen funciones estructurales solamente, y se supone que forman una armazón firme y espinosa, sobre la cual se adhieren a intervalos, un gran número de cadenas de oligosacáridos relativamente cortos que constituyen las sustancias de los grupos sanguíneos. (79).

La fracción de hidratos de carbono de todas las sustancias ABH y Lewis son de composición cualitativamente similar. Cada una contiene una metil pentosa, L-fucosa, una hexosa, D-galactosa, 2 amino azúcares, N-acetil D-glucosamina y N-acetil-D-galactosamina, y un azúcar carbono-9, y ácido N-acetil neuramínico. Uno de estos azúcares, al parecer, es inmunodominante en cada una de las sustancias de grupo sanguíneo. (79).

Los determinantes antigénicos tienen esencialmente 4 azúcares princi-

pales: d-galactosa, l-fucosa, d-glucosamina, y d-galactosamina. (2), (24), (42), (47), (49), (79), (81).

En contraste con las sustancias de grupo sanguíneo que se encuentran en las secreciones, la mayoría de los extractos derivados de las células son glucolípidos, aunque se han hallado también glucoproteínas residuales. No obstante, parece que las cadenas de oligosacáridos que confieren la especificidad del grupo sanguíneo, de las sustancias de grupo sanguíneo glucolípidos de los glóbulos rojos, así como las sustancias glucoproteicas halladas en las secreciones, son idénticas a juzgar por las similitudes en la especificidad de los determinantes antigénicos de los glóbulos rojos y secreciones. (79). La biosíntesis de las sustancias A y B se muestra en la figura número 1. (49).

El control genético se produce presumiblemente a través de la formación de enzimas glucosiltransferasas específicas. Se reconocen dos cadenas precursoras sobre la base de una ligadura 1---→ 3 (tipo 1) y una ligadura 1---→ 4 (tipo 2) de una unidad galactosil terminal y la N-acetil galactosamina residual subterminal. Figura número 2. (24), (49), (79), (81).

Se supone que la transferasa controlada por el gen H, agrega L-fucosa con una ligadura alfa al carbono en posición dos de cada cadena para formar una estructura H activa. La enzima controlada por el gen Lewis también una fucosiltransferasa agrega una L-fucosa por ligadura alfa a la posición 4 de la unidad N-acetil glucosamina subterminal en las cadenas tipo 1 solamente, ya que las cadenas tipo 2 ya están substituidas en esa posición. La estructura resultante tiene especificidad Le^a. Sin embargo, puede haber un oligosacárido tipo 2 que contiene fucosa ligada al carbono 3 de la N-ace-

FIGURA Nº. 1

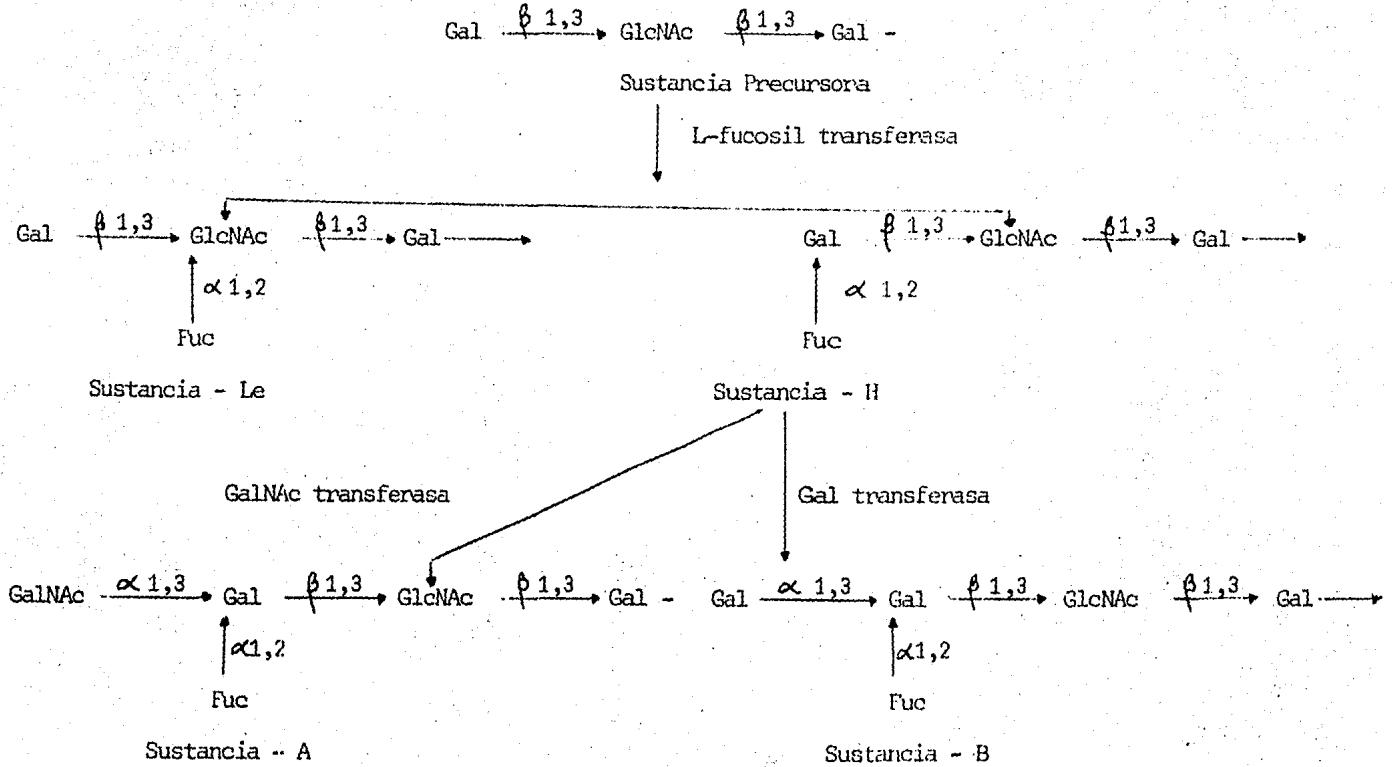
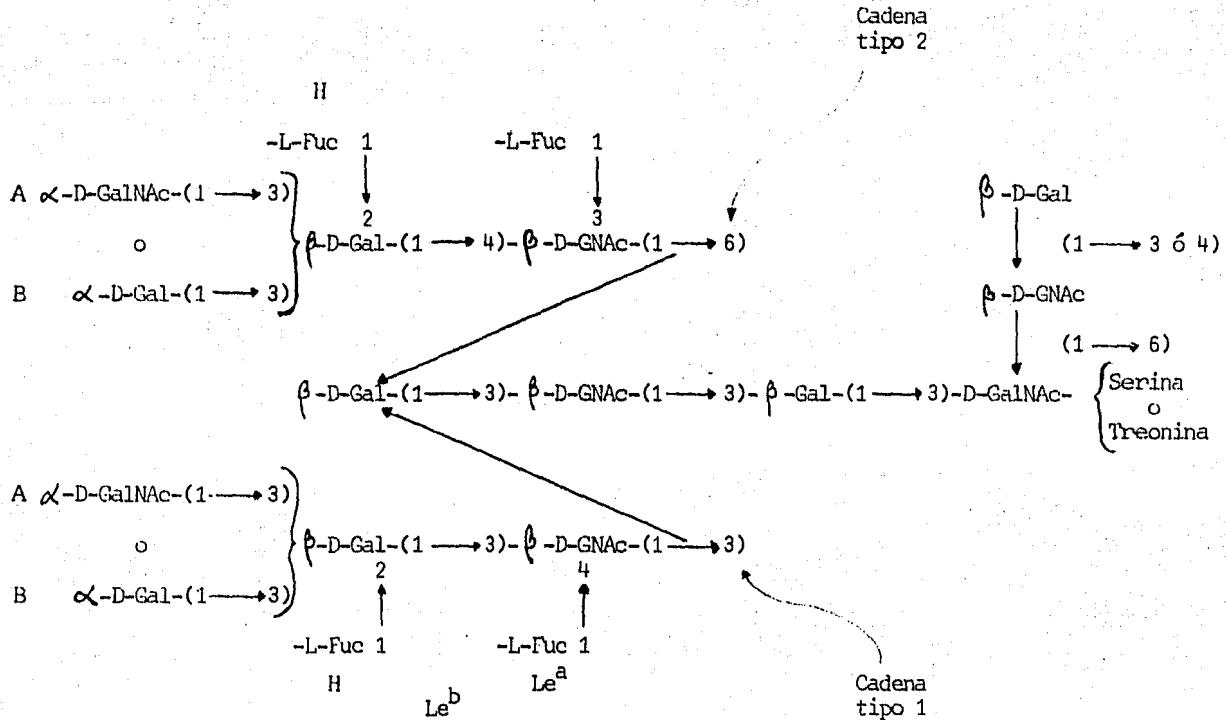


FIGURA Nº. 2



ESTRUCTURA COMPUESTA QUE SE PROPUSO PARA LAS SUSTANCIAS ESPECIFICAS DE GRUPO SANGUINEO A, B, H, Le^a, Y Le^b LIGADAS A LA ESPINA DE SERINA O TREONINA DEL ARMAZON POLIPEPTIDICO.

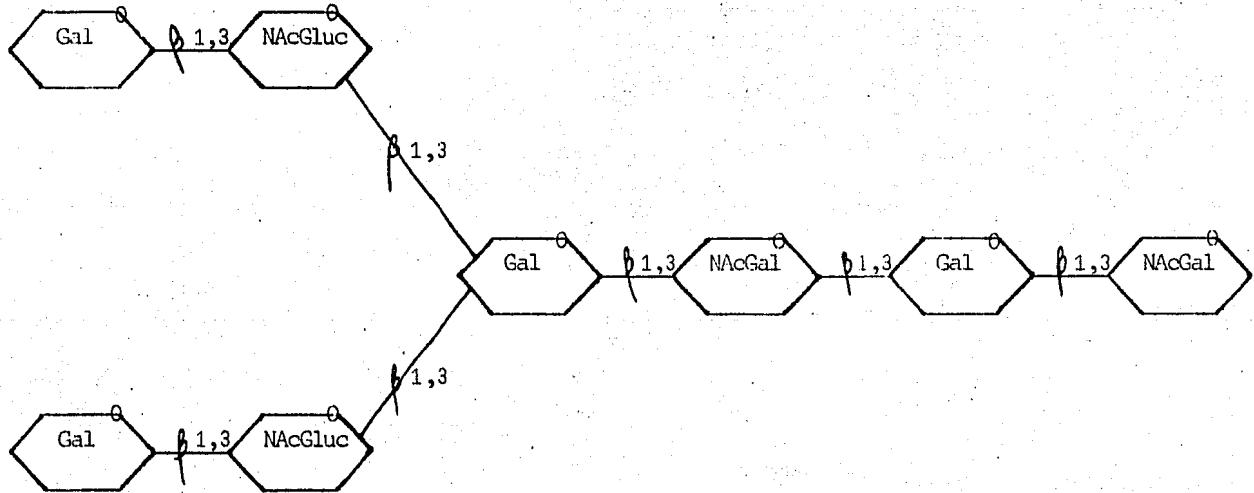
til glucosamina con actividad Le^a muy pobre. Cuando están presentes los genes H y Le , se agregan dos unidades de fucosil a los azúcares adyacentes de la cadena tipo 1, dando una determinante Le^b . Las cadenas fucosil tipo 2 tienen una actividad Le^b muy pobre. (79).

Existe otra estructura que fue desarrollada por Hoyd y Kabat en donde se encuentran ambas estructuras tipo 1 y tipo 2, esto es, con la galactosa terminal contigua a la N-acetil glucosamina de ambas uniones ϕ 1-3 y ϕ 1-4. Estos autores sugirieron que los subgrupos de A pueden ser atribuidos por la presencia de la N-acetil galactosamina sustituida como un azúcar terminal en una o ambas ramas de esta estructura. Así, por ejemplo, A_1 puede ser una sustitución de N-acetil galactosamina en ambas cadenas tipo 1 y tipo 2. Figura número 3. (81).

La presencia de una unidad de fucosil que confiere especificidad H a la sustancia precursora, se considera como esencial para el funcionamiento de las transferasas controladas por los genes A y B. Por lo tanto, la N-acetil-D-galactosamina que se une por una ligadura alfa al carbono número 3 de la unidad galactosil terminal, confiere especificidad A a la sustancia precursora del H activo, mientras que el agregado de D-galactosa en la misma ligadura da como resultado una especificidad B. (42), (79), (81). Se cree que la D-galactosa no es exactamente el azúcar que confiere la especificidad, sino que es la 6-acetil glucosamina. (42).

Como ya se dijo antes, los antígenos de la membrana A, B, y H de los eritrocitos son complejos y altamente ramificados, glicoesfingolípidos más precisamente son referidos como policeramida (glicosil) o N-acil esfingosina. (49). (81).

FIGURA N°. 3



LA ESTRUCTURA RAMIFICADA DE LA COLUMNA DE LOS POLISACARIDOS DE LAS SUSTANCIAS DE GRUPO SANGUINEO, LAS RAMAS CONSISTEN DE AMBAS CADENAS TIPO 1 Y TIPO 2.

Al igual que los grupos sanguíneos ABH, los sistemas Le, Ii, y P son estructuras oligosacáridas ligadas a la ceramida. (47). Los factores Le^a y Le^b son glucolípidos no sintetizados in situ sino adquiridos del plasma, donde son transportados por lipoproteínas. (42).

Los sistemas M y N son glucoproteínas y la especificidad estará relacionada con la existencia de pequeños oligosacáridos; la galactosa es el carbohidrato predominante. (42), (81).

Se encuentra la evidencia sustancial de que el antígeno $Rh^o(D)$ sea una proteína. (47). (81).

Los sistemas ABO y Rh-Hr, son los más importantes por su capacidad inmunogénica y además, en el caso del sistema ABO por la particularidad de que en la circulación sanguínea se encuentran regularmente anticuerpos naturales específicos contra tales antígenos. (61).

6. HERENCIA.

Los genes que controlan la estructura de los antígenos en cualquier sistema de grupo sanguíneo particular es asumido para ocupar el correspondiente loci en un par de cromosomas homólogos. Se ha demostrado que la mayoría de los genes son transportados en autosomas individuales que pueden ser homocigotos o heterocigotos, y solamente se ha encontrado que el sistema de grupo sanguíneo Xg es transportado en el cromosoma X. (47), (71).

6.1. MAPA CROMOSOMICO.

Desde 1962 se conoció con certeza que el sistema Xg ligado al sexo se encuentra en el cromosoma X. (83).

En 1968 se demostró el primer locus autosómico asignado al grupo sanguíneo Duffy y posteriormente el grupo sanguíneo Rh-Hr.

En seguida se menciona el número del cromosoma en el cual se localizan algunos de los grupos sanguíneos. (83)

Sistema Rh-Hr y Duffy en el cromosoma número 1.

Sistema MNSs en el cromosoma número 4.

Sistema chido (Ch) y Rodgers (Rg) en el cromosoma 6.

Sistema ABO en el cromosoma número 9.

Los siguientes grupos sanguíneos se encuentran tentativamente en los siguientes cromosomas.

Sistema P en el cromosoma número 6.

Sistema Kidd (Jk) y Colton (Co) en el cromosoma número 7.

La clasificación de los diferentes grupos sanguíneos se lleva a cabo con sueros hemoclasificadores conocidos a partir de la reacción de agluti-

nación antígeno-anticuerpo. (83).

6.2. ANOTACIONES DE LOS GRUPOS SANGUÍNEOS.

La anotación de los grupos sanguíneos se ha hecho de modo fragmentario y los procedimientos utilizados no son muy seguros.

Se usan tres tipos principales de anotación:

1.- Los alelos alternativos se pueden designar por secuencias de letras, (A y B, II y N).

2.- Los alelos alternativos se pueden designar por letras mayúsculas y minúsculas. (S y s, K y k, C y c). Observandose que el uso de una minúscula no implica en éste caso que el carácter en cuestión sea recesivo.

3.- Los alelos alternativos se pueden designar por una abreviatura y un sufijo generalmente una letra. (Lu^a y Lu^b , Fy^a y Fy^b). (71).

Los sistemas de grupo sanguíneo suelen designarse en la actualidad con el apellido de la persona en quien se descubrió por primera vez el anticuerpo (por ejemplo Duffy y Kidd); algunas letras de este nombre sirven para designar el locus del respectivo gen (Fy por Duffy, Jk por el niño J. Kidd). El sistema Lutheran, por otra parte, recibió el nombre del donante del antígeno de este sistema. (71).

Las reacciones de los hematíes se describen como: $Jk(a+ b+)$, $Jk(a+ b-)$, $Jk(a- b+)$ o $Jk(a- b-)$ según los resultados de la prueba de los hematíes con anticuerpos anti- Jk^a y anti- Jk^b . (71).

El primer ejemplo de anticuerpos que se halló para tipificar, fue en circunstancias naturales, en individuos humanos sanos (ABO, Le); en animales inmunizados (MN, P, Rh); en las madres de niños con enfermedad hemolítica.

tica del recién nacido (Ph, Kell, Kidd, Diego); o en pruebas cruzadas (Lutheran, Duffy, I, Curtwright, Xg, Dombrock). (71).

Además hay otros sistemas de grupo sanguíneo que se encuentran inciertos.

Grupos públicos y privados. Se conocen otros diversos antígenos, algunos de los cuales son muy corrientes (públicos) y otros muy raros (privados). Estos antígenos probablemente difieren sólo de los sistemas de grupo sanguíneo habituales en su incidencia. Es difícil establecer si un antígeno rarísimo o muy frecuente pertenece a algún sistema de grupo sanguíneo conocido o si en realidad forma parte de un sistema nuevo, pero en cualquier caso su incidencia anula su posible utilidad como marcador genético, por el número muy reducido de familias en que es demostrable la segregación en el locus en cuestión. (71).

6.2.1. SISTEMA ABO.

La herencia de los antígenos fue propuesta por Bernstein en 1924. (81). El explicó la existencia de un único sistema tri-alélico con genes A, B, y O que operan en un único locus genético. (2), (47), (71), (79), (81).

Los antígenos ABO se heredan como caracteres mendelianos simples. (79). Los genes A y B son codominantes y ambos dominan sobre el gen O, éste es recesivo o más precisamente es un amorfo, éste es, un gen que no se expresa por sí mismo fenotípicamente. (2), (47), (71), (79), (81).

Así, aunque hay 6 posibles genotipos, solamente pueden ser reconocidos 4 fenotipos ABO principales que son O, A, B, y AB. La reacción de cada

fenotipo con anti-A y con anti-B y sus genotipos se muestran en el cuadro número 2. (47), (71).

La herencia de los grupos sanguíneos ABO son por alelismo múltiple. (71). Uno de los tres genes posibles son transmitidos a un hijo por cada uno de los padres. (79). En el cuadro número 3 se observa, según la teoría de Bernstein que el apareamiento entre O y AB nunca puede resultar un hijo AB. (81).

El sistema ABO se ha dividido en subgrupos. Los más importantes son los que se han establecido en el grupo A y que corresponden a los subgrupos A_1 y A_2 con la correspondiente separación de AB en A_1B y A_2B . Se conocen otras variantes de A y B pero son muy raras. (2), (71). La frecuencia génica de los grupos sanguíneos del sistema ABO en la población mexicana se muestra en el cuadro número 4.

La sustancia H y su síntesis está bajo el control de un par alélico de genes H-h heredados independientemente del sistema ABO. El gen H, en dosis única o doble, origina el carácter H; el raro alelo h, cuando está presente en doble dosis, da como resultado la ausencia del carácter H. (79).

El material H activo, al parecer, es una sustancia precursora que, bajo la influencia de los genes A y B, se convierte en las sustancias activas A y B, explicando así la presencia de grandes cantidades de sustancia H en los individuos del grupo O. (71), (79).

El fenotipo Bombay es producido por la interacción entre los genes ABO y un gen mutante infrecuente, situado en un locus distinto. Fue descubierto en 1952, en Bombay, su suero contiene los tres anticuerpos anti-A, -B, y -H. (71). Figura número 4.

CUADRO N°. 2

Grupo sanguíneo (fenotipo)	Genotipo	Antígenos de los hematíes	Anticuerpos en el suero
O	O/O	Ni A, ni B	Anti-A, anti-B
A	A/A A/O	A	Anti-B
B	B/B B/O	B	Anti-A
AB	A/B	A, B	Ni anti-A, ni anti-B

GRUPO SANGUINEO ABO

CUADRO N°. 3

GENOTIPOS EXPRESADOS EN LOS HIJOS RESULTANDO DE VARIOS MATRIMONIOS SEGUN LA TEORIA DE BERNSTEIN

APAREAMIENTO	HIJOS ESPERADOS
A/A x A/A	A/A
A/A x A/O	A/A, A/O
A/A x B/B	A/B
A/A x B/O	A/B, A/O
A/A x A/B	A/A, A/B
A/A x O/O	A/O
A/O x A/O	A/A, A/O, O/O
A/O x B/B	A/B, B/O
A/O x B/O	A/B, O/O, A/O, B/O
A/O x A/B	A/A, A/B, A/O, B/O
A/O x O/O	A/O, O/O
B/B x B/B	B/B
B/B x B/O	B/B, B/O
B/B x A/B	A/B, B/B
B/B x O/O	B/O
B/O x B/O	B/B, B/O, O/O
B/O x A/B	A/B, B/B, A/O, B/O
B/O x O/O	B/O, O/O
A/B x A/B	A/A, A/B, B/B
A/B x O/O	A/O, B/O
O/O x O/O	O/O

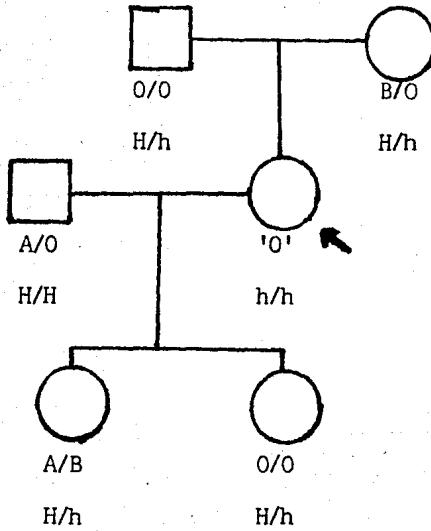
CUADRO N°. 4

CASOS ESTUDIADOS CON SUEROS ANTI-A,
ANTI-A₁, ANTI-B, Y ANTI-AB

FENOTIPO	N°. DE CASOS	% DE 2 111	FRECUENCIA GENICA
A ₁	398	18.85	0.1042
A ₂	19	0.90	0.0053
O	1 520	72.00	0.8501
A ₁ B	24	1.13	-
A ₂ B	2	0.09	-

B. C. S. C. M. N. (84).

FIGURA N°. 4



ARBOL GENEALOGICO DEL FENOTIPO BOMBAY (GENOTIPO h/h).

Las personas con el fenotipo Bombay son homocigotas para un alelo inactivo (amorfo) h. Si no se forma la sustancia H, las enzimas determinadas por los genes A y B no tienen sustrato sobre el cual actuar, de modo que los sujetos h/h no pueden sintetizar el antígeno A o B aunque estén presentes los genes A o B. No obstante, al parecer tienen genes A y B normales que pueden expresarse en la próxima generación, si sus hijos adquieren el gen H del otro progenitor. (71), (73), (81).

6.2.1.1. SECRECIÓN DE LOS ANTÍGENOS DE LOS GRUPOS SANGUÍNEOS.

Los antígenos A, B, y H del sistema de grupo sanguíneo ABO no solo existen en los hematíes, sino también en otros tejidos, y algunas personas los secretan en forma hidrosoluble en la saliva y otros líquidos orgánicos. La capacidad de secreción de estas sustancias es determinada por el gen secretor Se; su alelo no tiene una función conocida. Los secretores de las sustancias H, A, y B son Se/Se o Se/se; los no secretores son se/se. (71), (74), (81). Cuadro número 5.

El sistema Lewis está íntimamente relacionado con el sistema ABO a pesar de que los dos genes alélicos, Le y le se heredan independientemente de los genes ABO, Hh, y Sese. (79), (81). Figura número 5.

Se presume de que hay una unión genética entre los genes Lewis y los genes secretores, y los genes secretores ejercen un efecto en los antígenos A, B, y H, que es diferente del que ejercen en el antígeno Lewis. (81).

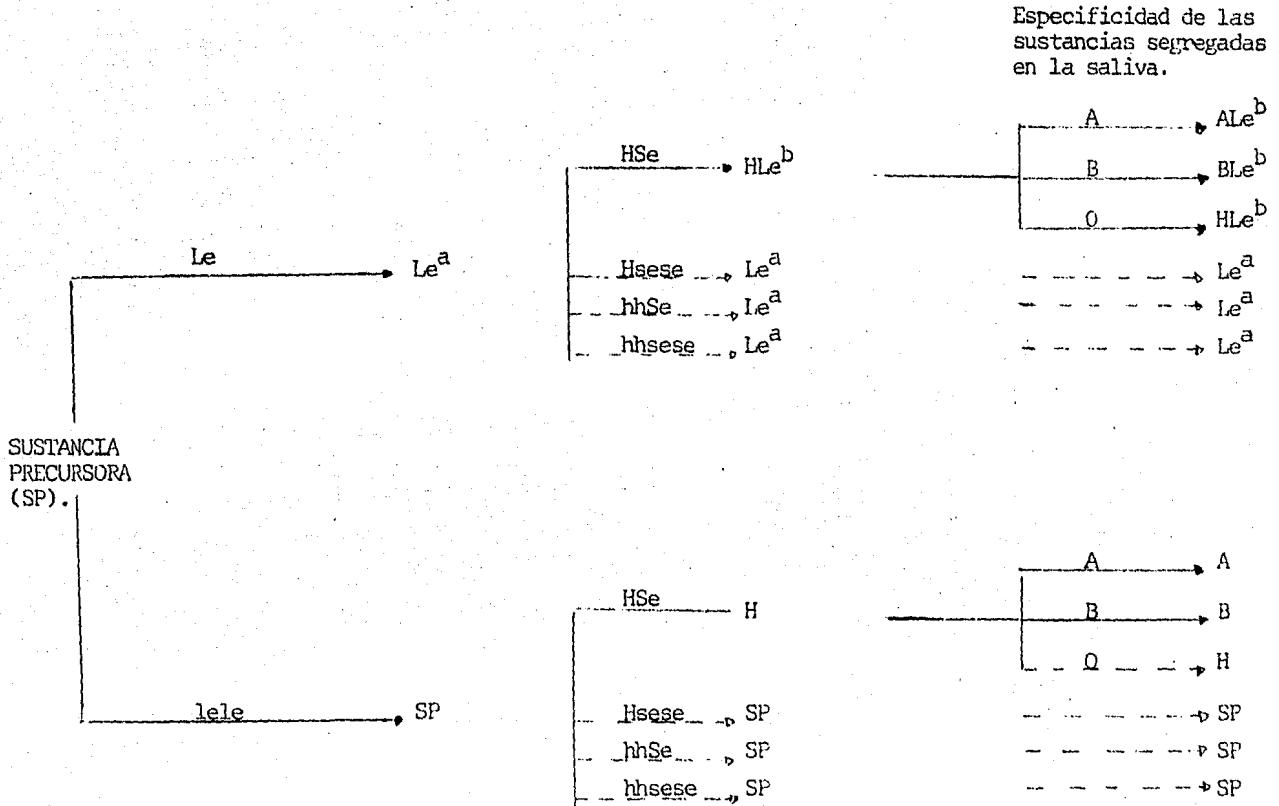
Los genes O, h, se, y le son recesivos amorfos, ésto es, ellos no controlan la síntesis de ninguna enzima en particular y no efectúan ningún cambio. Los cambios están hechos en orden de reactividad basada en la pre-

CUADRO N°. 5

Grupo sanguíneo	Antígenos de los secretores (Se/Se o Se/se)		Antígenos de los no secretores (se/se)	
	Hematíes	Saliva	Hematíes	Saliva
O	H	H	H	-
A	A	A y H	A	-
B	B	B y H	B	-
AB	A y B	A, B y H	A y B	-

ANTIGENOS ABH EN LOS INDIVIDUOS SECRETORES Y NO SECRETORES

FIGURA Nº. 5



MECANISMO HIPOTETICO DE LA BIOSINTESIS DE LOS DETERMINANTES ANTIGENICOS ABH Y LEWIS EN LAS GLUCOPROTEINAS, BAJO EL CONTROL DE LOS GENES Le, H, Se, Y ABO.

sencia de los genes conocidos y demostrados en el cuadro anterior, esto es: Lele, Hh, Sese, y ABO. (79), (81).

6.2.2. SISTEMA Rh-Hr.

Los aloantígenos del sistema Rh-Hr son complejos desde el punto de vista genético. Se ha sugerido dos esquemas genéticos estables para la aplicación de la expresión de los antígenos Rh-Hr en la superficie de los eritrocitos. Estas son las teorías de Fisher-Race y la de Wiener. (2).

Los grupos sanguíneos Rh-Hr se hallan determinados, según la hipótesis de Fisher y Race, por una serie de tres genes: C, D, y E, estrechamente ligados con sus formas alélicas: c, d, y e. (2), (47), (71), (79), (81).

Se considera que un grupo de tres alelomorfos se heredan de cada progenitor, (2), (47), (79), y cada uno define un antígeno único. Debido a que cada persona lleva un cromosoma de cada uno de sus progenitores, por lo cual pueden encontrarse diversas combinaciones de genotipos. (79). Figura número 6.

Las personas Rh^o(D) negativas son homocigotas d/d independientemente de la presencia de C, c, E, o e. (71).

El modelo de herencia de Wiener es el más aceptado generalmente, pero la nomenclatura es muy complicada y difícil de manejar. (81). La teoría de Wiener está basada en la ocurrencia de múltiples alelos en un único locus. (2), (47), (71), (79), (81). Figura número 7.

En la terminología implicada, el gen ocupa el locus expresado en la superficie de las células rojas como un aglutinógeno hecho bajo un indefinido número de determinantes antigénicos o factores donde cada uno reaccio

FIGURA N°. 6

ALGUNOS FENOTIPOS Rh^o(D)

LOCI CROMOSOMICO	DETERMINANTE ANTIGENICO	FENOTIPO Rh ^o (D)	
R _Z 	D C E	D C E	Rh ^o Positivo
R ₁ 	D C e	D C e	Rh ^o Positivo
R ₀ 	D c e	D c e	Rh ^o Positivo
R ₂ 	D c E	D c E	Rh ^o Positivo

CONTINUACION DE LA FIGURA N°. 6.

LOCI CROMOSOMICO	DETERMINANTE ANTIGENICO	FENOTIPO Rh ^o (D)
<p>r</p> 	<p>Ninguno</p> <p>c</p> <p>e</p>	<p>Rh^o Negativo</p>
<p>r'</p> 	<p>Ninguno</p> <p>C</p> <p>e</p>	<p>Rh^o Negativo</p>
<p>r''</p> 	<p>Ninguno</p> <p>c</p> <p>E</p>	<p>Rh^o Negativo</p>
<p>r^y</p> 	<p>Ninguno</p> <p>C</p> <p>E</p>	<p>Rh^o Negativo</p>

(2).

FIGURA N°. 7

ANOTACION DE LOS GENES DE FISHER Y RACE	ANOTACION DE LOS GENES DE WIENER
CDe	R ¹
cDe	R ⁰
cDE	R ²
CDE	R ^Z
Cde	r ¹
cde	r
cdE	r ^{''}
CdE	r ^y

LOS GENOTIPOS MAS FRECUENTES EN LOS INDIVIDUOS DE RAZA CAUCASICA Y MEXICANA SON:

		CAUCASICA		MEXICANA
		E.U.	G.B.	C.M.N.
CDe/cde	R ¹ /r	33.4	33.82	6.98-18.85
CDe/CDe	R ¹ /R ¹	17.3	17.41	23.71-39.70
CDe/cDE	R ¹ /R ²	12.9	12.75	25.78-38.76
cde/cde	r/r	14.4	15.1	0.0 - 2.06
cDE/cDE	R ² /R ²	2.4	1.33	2.7 - 9.28
cDE/cde	R ² /r	12.2	11.74	4.65- 9.91

ANOTACION DE LOS ALELOS DE FISHER Y RACE COMPARADA CON LA DE WIENER. (84).

na separadamente con los antisueros. (47), (81).

Se ha determinado que los antígenos D, c, y E del sistema Rh-Hr en éste orden son altamente inmunogénicos, (9), y sus frecuencias varían en las diferentes poblaciones; por ejemplo, en las poblaciones caucásicas la frecuencia del grupo sanguíneo Rh^o(D) negativo es de 18.5%, en la raza negra es de 6.0% y en el Valle de México es de menos del 3.0%. Otro ejemplo es de aquellas poblaciones donde el fenotipo del sistema Rh-Hr conteniendo el antígeno E es tan bajo como 26%, en tanto en el Valle de México lo encontramos en un 51.4. En la raza negra el antígeno c se encuentra en un 96.0% mientras que en el Valle de México es del 69.0%. (61).

7. ANTECEDENTES DE LOS ANTICUERPOS ERITROCITARIOS.

Las membranas celulares están formadas por una bicapa de fosfolípidos que forman la matriz de la membrana, donde se encuentran distribuidos asimétricamente los componentes como glicoproteínas, carbohidratos y glucolípidos. Pero también se encuentran proteínas periféricas asociadas con la superficie de la bicapa; proteínas que se encuentran integradas en toda la bicapa de lípidos; otras que se encuentran integradas solo una parte y otra parte está expuesta en la superficie externa de la bicapa (extracelular), y otras que se encuentran expuestas en la superficie citoplásmica sin cruzar la bicapa de lípidos. (49).

Los carbohidratos de glicoproteínas y glucolípidos que están localizados solamente en la superficie externa de la membrana de los glóbulos rojos son los que dan las características antigénicas para que se produzcan los anticuerpos eritrocitarios. (66).

Los anticuerpos contra los antígenos de la sangre son resultado del estímulo antigénico específico y en su producción influyen algunos factores que se han mencionado en general en una respuesta inmune y que dependen de que: (61):

- 1.- La conformación estructural o estérica del antígeno sea la adecuada para ser reconocida por el receptor celular como antígeno extraño.
- 2.- La célula inmunocompetente, tenga los receptores genéticamente determinados para captar el antígeno.
- 3.- La ubicación de los determinantes antigénicos sea la propicia para dar lugar al estímulo.
- 4.- La dosis del antígeno sea la adecuada para estimular al receptor.

Todos los anticuerpos son inmunoglobulinas y es el resultado de la respuesta inmune. Los anticuerpos antieritrocitarios en su respuesta primaria se caracterizan principalmente por ser de naturaleza IgM y se presenta algo de IgG. Cuando se lleva a cabo una respuesta secundaria se forma principalmente IgG. (47). Cuadro número 6.

Fue difícil demostrar y confirmar esta aseveración en la producción de aloanticuerpos de las células rojas en el hombre. Por ejemplo, en la respuesta al antígeno D se encontró predominantemente la inmunoglobulina IgG, en algunos sujetos se encontró la mezcla de IgG e IgM, y en una minoría de sujetos, la IgM fue producida en cantidades sustanciales. (47).

La respuesta para diferentes antígenos de las células rojas como son el K, Fy^a , y el Jk^a , parecen ser similares a la respuesta para el antígeno $Rh^o(D)$; aunque los anticuerpos Lutheran pueden ser también IgA. (47).

Se ha observado que la similitud de la estructura de las proteínas de los individuos de una misma especie, en este caso del hombre, debe influir en la observación de que algunos antígenos den lugar más frecuentemente a sensibilización; como es en el caso de los antígenos eritrocitarios hay diferencia de potencia inmunogénica, especialmente fuera del sistema ABO, como se anota en los cuadros números 7 y 8. (61).

Un sistema de grupo sanguíneo (ABO) en el cual se encuentran anticuerpos naturales merece una consideración por separado. En el sistema ABO pudiera considerarse que todos los sujetos están inmunizados. Sin embargo, los embarazos y las inyecciones de algunos productos animales incompatibles ABO causan cambios cuantitativos y cualitativos en los anticuerpos anti-A y -B. Probablemente el hecho más interesante a cerca de la producción

CUADRO N°. 6

ALGUNAS CARACTERISTICAS DE LAS INMUNOGLOBULINAS

	IgG	IgM
Cadenas pesadas	γ	μ
Cadenas ligeras	$\kappa \circ \lambda$	$\kappa \circ \lambda$
Forma molecular	$\gamma_2 \kappa_2$ $\gamma_2 \lambda_2$	$(\mu_2 \kappa_2)_5 J$ $(\mu_2 \lambda_2)_5 J$
Peso molecular	150 000	900 000
Coef. de sedimentación	7 S	19 S
Conc. en plasma (g/l) Adulto*	11.0	1.0
Rango	7.3 - 23.7	0.47 - 1.47
Recién nacido	ligeramente más alta que en el adulto	aproximadamen- te 0.1
$T_{1/2}$ (días)	23	5
% intravascular	44	80
Vel. catabolica (% días)+	7	18
Cruza la placenta	si	no
Función serológica	incompleta	aglutinina
Fija complemento	si	si

*Promedios obtenidos por Giblett (1969); los rangos por Arman y Hong (1971)
Pueden variar en cada laboratorio (Rowe, 1971).

+Porcentaje del pool intravascular destruido diario. (47).

CUADRO N°. 7

DIFERENCIA EN LA INMUNOGENICIDAD DE ANTIGENOS

ANTIGENO	SERIE DE GIBLETT POTENCIA ANTIGE- NICA	SERIE DE SALMON N°. DE CASOS	SERIE DE RODRIGUEZ N°. DE CASOS
D	0.5-1.0	28	42+
K	0.05	24(0.33)	7
<u>c</u>	0.0205	10(0.06)	15
E	0.0169	23(0.11)	34+
k	0.0150	-	-
e	0.0056	1	3
Fy ^a	0.0023	6(0.01)	7
C	0.0011	13	5+
Jk ^a	0.0007	6(0.04)	8+
S	0.0004	2	10++
Jk ^b	0.0003	-	-
s	0.0003	-	1++
N°. de casos con anticuerpos	475	72	132

+ Incluye algunos datos con detección simultánea de otros anticuerpos.

++ Detectados sólo simultáneamente con otros anticuerpos. (61).

CUADRO N°. 8

FRECUENCIA DE ANTICUERPOS ANTIERITROCITOS E INMUNOGENICIDAD* DE LOS ANTIGENOS CORRESPONDIENTES EN PACIENTES Y DONADORES MEXICANOS (1981)

ESPECIFICIDAD DEL ANTICUERPO	FRECUENCIA %		INMUNOGENICIDAD	
	PACIENTES	DONADORES	PACIENTES	DONADORES
D	1.5144	0.3788	1.0000	1.0000
E	1.9291	0.0022	1.2738	0.0058
<u>c</u>	1.7392	0.0136	1.1464	0.0359
C	0.3569	0.0410	0.2356	0.1082
M	0.1543	0.150	0.1018	0.0419
N	0.1253	0.0068	0.6270	0.0179
S	0.3850	0.0114	0.2547	0.0300
P	1.4063	0.0844	0.9299	0.2228
K	0.4437	0.0091	0.2929	0.2228
Le ^a	1.9195	0.3377	1.2674	0.8914
Le ^b	0.1736	0.0319	0.1146	0.0842
Le ^{a+b+}	1.2925	0.1848	0.8534	0.4878
Di ^a	0.2315	0.0068	0.1528	0.0179

*Inmunogenicidad proporcional considerando al antígeno D con valor de uno.

B. C. S. C. M. N. (84).

de anticuerpos en el sistema ABO es que el anti-A y -B inmunes son predominantemente IgM en las personas A o B, pero se encuentran predominantemente y en cantidades considerables la IgG y parcialmente la IgA en personas del grupo O. (47).

Las hemaglutininas naturales anti-A, -B están en una misma población individual de anticuerpos, y su presencia esta en función del fenotipo eritrocítico, así, los anticuerpos están presentes cuando el antígeno específico esta ausente. (47), (63). Hay dos teorías para explicar la producción de los anticuerpos llamados naturales, que están sujetas a discusión. Acorado por Springer y cols. los anticuerpos que ocurren en forma natural son el resultado de la inmunización repetida por la presencia de antígenos en el medio ambiente durante el desarrollo del individuo: Filitti-Wurmsen, Salmon y cols. dicen que la producción de hemaglutininas naturales (hetero anticuerpos) ABO están directamente relacionados con el fenotipo ABO. Estas teorías son complementarias para explicar la formación de estos anticuerpos. (63).

La producción de los anticuerpos naturales pueden ser debido a la inmunización con pequeñas dosis de sustancias inmunogénicas como las bacterias, y alimentos entre otros, para la producción de los anticuerpos IgM e IgG. Estos determinantes antigénicos están fuertemente relacionados con los antígenos de las células rojas. Hay diferencias cuantitativas y cualitativas entre los anticuerpos naturales e inmunes. (63).

Está demostrado que la edad y el sexo influyen en la producción de hemolisinas y hemaglutininas anti-A y -B. Ambas hemolisinas se incrementan durante la niñez, para llegar a un máximo a los 7 u 8 años de edad y gra-

dualmente decrecen. (26), (27). El anticuerpo anti-A en los niños permanece relativamente inalterado. Las aglutininas salinas demuestran similares cambios con la edad; sin embargo, las aglutininas incompletas revelan un firme incremento relativo con la edad. Las hemolisinas y aglutininas fueron significativamente más altas en niñas que en niños, pero no hubo diferencia en jóvenes adultos. En las personas de edad los niveles de hemolisinas fueron más altos en hombres que en mujeres, pero menores que en los jóvenes. (27).

Grunbacher encontró mayores niveles de anticuerpos en mujeres de 5 a 19 años que en hombres de la misma edad tanto para anti-B como para anti-A aglutinantes o hemolíticos. No está determinada la diferencia sexual en el resultado de un desarrollo fisiológico mayor en mujeres que en hombres, o si es cuestión de una característica asociada con el sexo. Se piensa que puede estar basado en un mayor potencial inmunológico global. (18).

En inmunohematología los anticuerpos inmunes (aloanticuerpos) son producidos por antígenos humanos como los antígenos eritrocitarios, plaquetas y leucocitos. Estos anticuerpos pueden ser IgM, IgG, o la mezcla según el momento del estudio después del o de los contactos con el antígeno. En el cuadro número 9 se anotan algunas diferencias entre los anticuerpos naturales e inmunes.

Existen algunos individuos que poseen tanto anticuerpos "naturales" como "inmunes". (21). En una proporción variable de sueros de varones del grupo O es posible detectar anticuerpos anti-A/B de características inmunes. De algún modo es obligada la existencia de una "inmunización" previa diferente a embarazo o por hemoterapia para efectuar dichos "cambios inmu-

CUADRO N°. 9

CARACTERISTICAS DE LOS ALOANTICUERPOS DEL SISTEMA ABO

	ANTICUERPOS NATURALES	ANTICUERPOS INMUNES
Aglutinantes	si	no
Sensibilizantes	no	si
Hemolíticos	±	si
Medio de reacción	salino	protéico
Coombs	no	si
Temperatura óptima	frio(4-22°C)	caliente(37°C)
Con células A _{pig}	no	si
Neutralización con sustancia ABH	si	± o poco
Naturaleza de la inmunoglobulina	IgM	IgG o IgA?
Denaturación con 2-Mercapto etanol	si	no
A 70°C	si	no
Fija complemento	si	si
Especificidad	A _{común} + A ₁	A

B. C. S. C. M. N. (84).

nológicos", por lo cual se piensa que hay otro mecanismo de inmunización en la incompatibilidad ABO, como puede ser la "heteroinmunización" por sus tancias del grupo A/B. (4).

Los componentes geográficos, ecológicos o raciales son determinantes de las diferencias sexuales en el comportamiento serológico de las diversas fracciones de inmunoglobulinas en el suero. (21). Hay niveles más altos de anti-A y -B en negros que en blancos. Igualmente los niños negros están más desarrollados (fisiológica y esqueléticamente) que los niños blancos. Esto probablemente incluye un mayor desarrollo del sistema eritropoietico y de los antígenos A y B. Así, el alto nivel de aloanticuerpos y el mayor desarrollo de los antígenos A y B de las células rojas sanguíneas fetales puede explicar la alta incidencia de la enfermedad hemolítica del recién nacido ABO en niños negros que en niños blancos. (26). Hay un incremento en la incidencia y severidad de la enfermedad hemolítica en los niños negros. (13), (57).

En 1963, Polley y cols. demostraron que el anticuerpo anti-A en sujetos del grupo B fueron predominantemente 19S γ -globulina (IgM), y raramente hicieron anticuerpos 7S γ -globulina (IgG), después de ser estimulados con sustancias del grupo A, en cambio, los individuos del grupo O, con frecuencia se les determino anti-A IgG, presentando un mayor aumento cuando fueron estimulados con sustancia del grupo A. (78).

Rosenfield y Ohno han demostrado que considerando que el 90% de los individuos son del grupo O y tienen IgG anti-A y -B; solamente el 34% de los individuos del grupo A o B tienen IgG anti-B o -A respectivamente. (13).

La interacción observada entre los grupos sanguíneos Lewis y secretor con anticuerpos hemolíticos anti-B y -A fue consistente en individuos masculinos y femeninos tipo O y se expresó más en individuos Le(a- b-). (27).

Estos grupos demostraron efectos importantes y consistentes en los niveles de los aloanticuerpos; el anti-B hemolítico fue menor en los no secretores que en los secretores, y menor en Le(a- b-) y Le(a+ b-) que en Le(a- b+). El efecto secretor fue expresado más en los Le(a- b-), cuando los anti-B hemolíticos, salinos e incompletos fueron mucho menores en los no secretores que en los secretores. (27).

Los tipos secretores y Lewis solo demuestran efectos importantes en los niveles de inmunoglobulinas. (27). In vitro, los anticuerpos "naturales" son inhibidos por las sustancias de grupo sanguíneo solubles, a condición de que las cantidades sean proporcionalmente equivalentes, así los anticuerpos inmunes no son eliminados o son difícilmente neutralizables por las sustancias de grupo soluble. (50).

La prueba de neutralización fue solo realizada para predecir la enfermedad hemolítica del recién nacido ABO. Los sueros hiperinmunes de madres ABO con niños incompatibles pueden no ser neutralizados con saliva de secretor a diluciones de 1:8 o en algunos casos de 1:2. Sin embargo, en los individuos de grupo O normales, los anticuerpos ABO pueden ser neutralizados. Esta prueba fue conveniente para separar anticuerpos "inmunes" (IgG) anti-A, -B, -A,B de las formas de anticuerpos IgM o IgG. (78).

Los anticuerpos que se forman por un estímulo antigénico de los sistemas de grupo sanguíneo pueden ser IgG o IgM. Algunas características de estas inmunoglobulinas se muestran en los cuadros números 5 y 9.

7.1. FUERZAS INVOLUCRADAS EN LA AGLUTINACION DE CELULAS ROJAS.

Las células rojas normalmente se repelen unas de otras; el potencial eléctrico (potencial zeta) de la superficie de las células rojas depende de la carga electro-negativa de la superficie. En presencia de electrolitos, los cationes son atraídos por la superficie de las células rojas ejerciendo una disminución en la repulsión eléctrica entre las células. La carga de la superficie es debido al grupo carboxil del ácido sialico. (47).

El tratamiento de las células rojas con proteasas posiblemente libera sialomucopéptidos e incrementan la solubilidad de los antígenos para permitir su agrupación. La mejor aglutinación puede ser debido a la formación de múltiples puentes entre la agrupación de dos células adyacentes. (47).

Los anticuerpos incompletos por definición fallan para aglutinar las células rojas suspendidas en salina pero si pueden aglutinar las células rojas suspendidas en albúmina bovina. Esto se debe a que se incrementa la constante dieléctrica del medio y se reduce el potencial zeta, esto es, la repulsión eléctrica entre las células. (47).

Para la aglutinación, la distancia entre las células rojas puede ser más grande con las moléculas de IgM que con las de IgG, simplemente porque las IgM son más grandes y pueden formar puentes a distancias más grandes. Generalmente los anticuerpos IgG no aglutinan células rojas suspendidas en salina bajo condiciones ordinarias cuando la mezcla es centrifugada, pero sí las puede aglutinar cuando hay una fuerza centrífuga suficientemente grande. (47).

El incremento de la aglutinación con células rojas tratadas con enzimas es mucho más marcado para anticuerpos IgG que para IgM; aunque muchos

anticuerpos IgG humanos pueden fallar para la aglutinación de células rojas suspendidas en salina, ya que hay ciertas excepciones como son la IgG anti-A, -B, y -M. Esto puede ser debido al número de sitios antigénicos; ya que, por ejemplo el antígeno A tiene casi 100 veces más sitios que el antígeno Rh^o(D). (47).

Algunos estiman que para que sea observada la aglutinación se requiere de cierta cantidad de anticuerpos por célula roja ya sea IgM o IgG, demostrándose que se requiere de mayor cantidad de anticuerpos IgG que IgM. Al igual que la concentración mínima de suero se requiere mayor cantidad para IgG que para IgM. (47).

8. MECANISMO DE LA ALOINMUNIZACION MATERNO FETAL. (AMF).

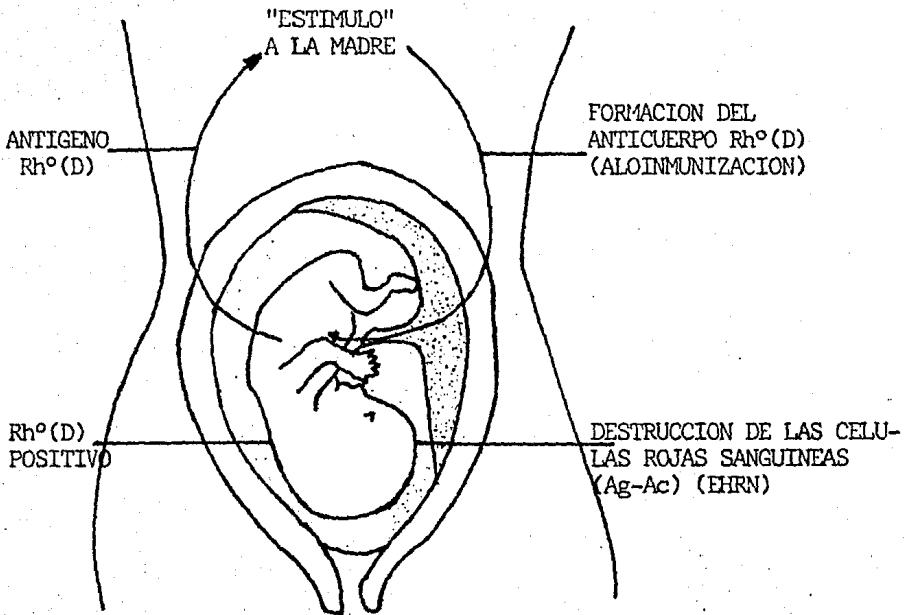
La sangre que circula en la madre y en el feto en condiciones normales se hallan totalmente separadas por la barrera placentaria, pero cuando sobrevienen rupturas de esta membrana delgada, pequeñas cantidades de sangre fetal penetran en la circulación sanguínea materna, ocasionando de esta forma la inmunización a todos los antígenos que desconozca la madre y que el hijo ha heredado del padre. (71). Esta es una de las causas más frecuentes por lo cual el sexo femenino contiene tres veces más anticuerpos irregulares que el sexo masculino. (9).

La aloinmunización materno fetal generalmente es causada por incompatibilidad de grupo sanguíneo de la madre y el feto. Los aloanticuerpos formados por la madre, son debido a estímulos por previos embarazos o transfusiones o en raras ocasiones por auto-anticuerpos, (79), y tienen acceso a la circulación fetal cruzando la barrera placentaria para interactuar con los antígenos de las células rojas fetales o neonatales causando su hemólisis. (7), (58). Figura número 8.

Schanfiel notó que la subclase de anticuerpo IgG maternos puede ser un factor determinante en la severidad de la enfermedad hemolítica del recién nacido ABO. Las 4 subclases de IgG cruzan la placenta, pero la IgG 2 y 4 no se unen con las células mononucleares fagocíticas, y no causan hemólisis extravascular, la IgG 1 y 3 sí se unen y pueden causar enfermedad hemolítica del recién nacido. También sugirió que si los anticuerpos IgG 1 cruzan primero la placenta su presencia prolongada en la circulación fetal puede causar una destrucción grande de células rojas durante el embarazo, siendo más benigno durante el curso post-natal. Después sugirió que si los

FIGURA N°. 8

MADRE Rh^o(D) NEGATIVA



MECANISMO DE LA ALOINMUNIZACION MATERNO FETAL Y DE LA ENFERMEDAD HEMOLITICA DEL RECIEN NACIDO

anticuerpos IgG 3 cruzan la placenta más tarde en la vida fetal, puede resultar una destrucción menor de las células rojas sanguíneas en el curso prenatal, y más severo durante la vida postnatal. (78).

9. ENFERMEDAD HEMOLITICA DEL RECIEN NACIDO (EHRN) POR AMF.

Como ya se mencionó, en el período neonatal la ictericia es un fenómeno fisiológico, pero muchos procesos fisiológicos y patológicos interactúan incrementando la producción de bilirrubina y disminuyendo su excreción. (7).

En 1940 la ictericia neonatal fue pobremente comprendida, se usaban términos semejantes como: neonatos ictericos graves, anemia congénita del recién nacido, e hydrops fetal ideopático. (7).

Se pueden plantear en ocasiones problemas clínico-hematológicos de diagnóstico diferencial con otras ictericias precoces neonatales inmunológicas y no inmunológicas. (4).

La EHRN por AMF es un desorden de aloinmunización pasiva, cuando los anticuerpos inmunes de grupo sanguíneo de la madre se encuentran en la circulación del feto o neonato ocasionando que la duración máxima de vida de las células rojas sanguíneas del niño sea acortada debido a la destrucción de sus eritrocitos pudiendo dar como resultado la muerte fetal dentro del útero o bien causar anemia e ictericia variable o la muerte del recién nacido. (7), (58), (78). Figura número 8.

Estos anticuerpos siempre son IgG y reaccionan cuando las células rojas del niño tienen el antígeno positivo. La EHRN puede ser desde subclínica hasta severa requiriendo de exsanguinotransfusión o en casos extremos resultando hydrops fetal. La severidad de la EHRN puede variar dependiendo de; 1) La cantidad de anticuerpos que cruzan la placenta, 2) la subclase del anticuerpo IgG materno, 3) el tiempo en el que el anticuerpo cruza la placenta, 4) las propiedades inhibitorias de los tejidos o secreciones fe-

tales, 5) la presencia y desarrollo del antígeno apropiado en las células rojas, y 6) la eficiencia del sistema fagocítico mononuclear. (78).

Los anticuerpos contra los antígenos de las células rojas que desarrollaron tarde en la vida fetal no causan muerte intrauterina, dando como resultado una EHRN leve o no presentan la EHRN. (78). Pero, si el niño tiene la EHRN severa y sobrevive, las secuelas de ictericia nuclear y kernicterus puede ocasionar invalidez durante toda su vida. (58).

De los 100 antígenos que se han detectado en las células rojas; los que predominantemente ocasionan EHRN son los antígenos del sistema ABO en un 66% y el antígeno Rh^o(D) en un 33%, menos del 2% se debe a otros antígenos como K, E, o C. (7). En el cuadro número 10 se anota la frecuencia de los posibles hijos con EHRN en la Cd. de Monterrey.

9.1. ALOINMUNIZACION MATERNO FETAL POR INCOMPATIBILIDAD ABO.

Los embarazos heteroespecíficos pueden clasificarse como:

Madre A niño B,

Madre B niño A, y

Madre O niño A o B. (7).

El fenómeno hemolítico ABO esta restringido sólo para el antígeno A y algo del antígeno A₂ y el antígeno B de madres del grupo O. (7).

La producción de anticuerpos A/B no requiere de la sensibilización con productos sanguíneos o embarazos ya que se originan por estímulos ambientales después del nacimiento. La antigenicidad A-simil y B-simil de bacterias, virus, alimentos, plantas y pólenes podría estimular la aparición de aglutininas salinas e incompletas no inhibibles por sustancias ABH. (7),

CUADRO N°. 10

POSIBILIDAD DE HIJOS CON INCOMPATIBILIDAD MATERNO
INFANTIL. (MONTERREY, N. L.)

ANTIGENO (S) DEL NIÑO	%	OBSERVACIONES
AB	15.63	Solo para A: 10.84 Solo para B: 4.79
Rh ^o (D)	5.60	
ABO + Rh ^o (D)	2.04	
ABO + Rh ^o (D)	0.88	Solo para A + Rh ^o (D) 0.61 Solo para B + Rh ^o (D) 0.27

Tomado de: R. Garza-Chapa y cols.:
Arch. Invest Méd. (MEX) (IMSS). 9:541, 1978

(21).

Además de las transfusiones incompatibles y otros agentes inmunizantes, infecciosos y no infecciosos, diversas variables afectan el título y la especificidad serológica de las aglutininas ABO, tales como edad, sexo, clima, altitud sobre el nivel del mar, y la herencia. (21). También se ha demostrado que la administración del toxoide tetánico durante el embarazo y las infecciones parasitarias por helmintos son causantes de anticuerpos IgG ABO de títulos extremadamente altos, dando como resultado la EHRN ABO. (78).

La cantidad, peso molecular y propiedades de los anticuerpos varía de persona a persona. Los individuos del grupo A o B producen anti-B o anti-A que predominantemente son IgM. Los individuos del grupo O, sin embargo, producen anti-A y -B de tipo IgM pero más comúnmente de tipo IgG (7) y algo de IgA. (47).

Tovey estudio los anticuerpos ABO aglutinantes de madres del grupo O y anticuerpos detectados en suero de cordón de niños compatibles e incompatibles ABO encontrando un alto título de anticuerpos ABO en el suero de cordón de ambos niños, concluyendo que el paso de los anticuerpos de la madre al feto no depende de la absorción de anti-A, -B, -A,B por los antígenos tisulares ABO de la placenta. (78).

Kochwa y col. demostraron que el 70% de las madres del grupo O tienen títulos de IgG anti-A o -B mayores de 1:2 y las madres del grupo A o B no los tienen; el embarazo no parece ser un mayor estímulo ya que niños de madres primigestas pueden ser afectados severa o muy severamente en comparación con los niños de madres multiparas, no es obvia la sensibilización de

la madre por embarazos incompatibles o transfusiones sanguíneas. Esto parece explicar porque las madres del grupo O tienen niños con EHRN ABO. (13), (26).

No hay una relación lineal entre el título de anticuerpos y la severidad de la enfermedad hemolítica, muchos anticuerpos "inmunes" tienen características de "naturales" y viceversa, siendo en mujeres multíparas no diferenciables y no es claro si el título incrementa con los embarazos. La ocurrencia de los anticuerpos anti-A y -B (inmunes y naturales) en la mayoría de los embarazos heteroespecíficos no tienen primacía en la enfermedad hemolítica. (7).

Se piensa que títulos altos de anticuerpos IgG es resultado de isoinmunización por cualquier embarazo incompatible, teniendo los fetos incompatibles alto riesgo de ictericia debido al efecto acumulativo de isoinmunización, aunque, no hay ninguna evidencia concreta de que la incompatibilidad ABO incrementa con la disposición al nacimiento como ha sido observada en la incompatibilidad Rh^o(D). (52).

Los anticuerpos anti-A y/o anti-B de tipo IgG están presentes en adición a los anticuerpos IgM, y pueden encontrarse en el suero de prácticamente todos los niños, si el anticuerpo está presente en la circulación de la madre de grupo O, ya que tienen niveles muy altos de anticuerpos anti-A o -B. (26).

En ciertos embarazos heteroespecíficos ABO se pueden considerar los siguientes hechos como una cadena patogénica común.

- 1.- La presencia de anticuerpos anti-A, -B de caracteres y títulos diferentes a los considerados como "naturales" en el suero materno del grupo

0. ("inmunización materna ABO").

2.- El hallazgo de anticuerpos anti-A, -B de tipo IgG cubriendo en mayor o menor grado la población eritrocitaria en el recién nacido. ("afectación inmunológica ABO neonatal").

3.- El descubrimiento de una "ictericia precoz" como expresión clínica de la EHRN ABO, habitualmente leve. (4).

9.2. ENFERMEDAD HEMOLITICA DEL RECIEN NACIDO ABO.

La EHRN ABO se refiere a esos niños que tienen células rojas sanguíneas con sobrevida acortada como resultado de la destrucción inmune debido a anticuerpos ABO de su madre, y que requieren de tratamiento por anemia hemolítica. (78).

Con la declinación de la incidencia de la enfermedad hemolítica Rh^o(D) desde la introducción de la inmunoglobulina inmune Rh, la incompatibilidad ABO ha venido a ser la causa más común hoy en día de la EHRN que requiere de terapia. (13), (78).

Halbrecht sugirió que la ictericia neonatal que ocurre en las primeras 24 h de vida podría ser debido a la incompatibilidad ABO. El se refirió a la enfermedad como una "ictericia procoz". (7), (13), (48). Rosenfield fue el primero en notar la marcada preponderancia de las madres del grupo O teniendo niños con enfermedad hemolítica del recién nacido ABO. (8), (13).

La EHRN ABO ocurre más frecuentemente en niños del grupo A o B nacidos de madres del grupo O, (13), (32), (52), (57), (58), reportandose diferentes frecuencias como son: 37.9% de la EHRN ABO se presenta en niños del

grupo A o B cuando la madre es del grupo O, 0.8% cuando la madre es del grupo A o B y su hijo es B o A respectivamente. (13). En China la incidencia es del 71.6% para la EHRN ABO y 28.4% para la EHRN Rh^o(D). Las madres del grupo O que llevan fetos A o B producen la EHRN ABO en un 87.9%. Los restantes son fetos nacidos de madres del grupo A o B y padres del grupo B o A. La incidencia de la EHRN ABO en primíparas es del 45-50%. (58). En Africa del sur la incidencia de incompatibilidad ABO es del 44.4% de los casos de ictericia neonatal, siendo tan severa que requirio de exsanguinotransfusión. La prueba de Coombs directa no proporciono ninguna información a cerca de la EHRN debido a que fue negativa. (78).

La EHRN ABO resulta de los anticuerpos anti-A o -B maternos, actuando en los correspondientes eritrocitos neonatales, produciendo una hiperbilirrubinemia y anemia, que si no se reconoce por negligencia puede causar encefalopatía o bien la muerte por kernicterus. Su tratamiento es con fototerapia, transfusión y/o exsanguinotransfusión. (45), (57).

Se ha demostrado que cualquier grado de hiperbilirrubinemia puede ocasionar en la posterior infancia, empeoramiento en la percepción, retardo en la palabra, hiperactividad, y dificultad para aprender. Los niños que no presentan ninguna anomalía neurológica durante las 3 semanas de edad demuestran opistotomus leve a los 2 meses y comienzan a andar a los 2 años revelando atetosis, disartria, y sordera. (52).

La hiperbilirrubinemia aparece entre el segundo y el quinto día de nacido, el total de bilirrubina máximo es de 8.2-4.0 mg/dl y la fracción conjugada es de 15-35% de la total. La duración de la ictericia es corta y desaparece dentro del primer mes. (68).

Se encuentra una alta prevalencia de la EHRN ABO en las poblaciones de los caucásicos y negros, siendo relativamente frecuente sin ser detectada rápidamente. (54). Esto mismo pasa en la población Indú. (52). Kirkman, Bucher, y cols. determinaron la incidencia de la EHRN ABO en niños negros siendo de 2 a 3 veces más frecuente que lo determinado en los niños blancos. (78).

La EHRN ABO clínicamente importante en estos grupos puede ser definida por niños que no son del grupo O nacidos de madres del grupo O, que requirieron tratamiento, con fototerapia y/o exsanguinotransfusión. Esta interpretación asume que toda ictericia en niños heteroespecíficos ABO es debido a la enfermedad hemolítica. (73). Se ha observado que hay una disminución en la incompatibilidad ABO en presencia de la consanguinidad, dando una menor frecuencia de niños ictericos en los niños incompatibles de padres consanguíneos. Es probable que la homocigocidad a otro loci pueda interactuar con la incompatibilidad ABO para reducir los efectos. (52).

Los antígenos de las células rojas sanguíneas se presentan en la sexta semana fetal; a diferencia de los antígenos Rh-Hr que son determinados solamente en el eritrocito, los antígenos ABO se determinan en todas las células somáticas del cuerpo excepto las que componen el sistema nervioso central, y también se encuentran en sus secreciones cuando el individuo es secretor. Se sabe que las células rojas fetales contienen menos sitios antigénicos A o B que las células del adulto; (7); los antígenos A de los recién nacidos parecen ser tan débiles como los antígenos A₂ del adulto; como se muestra en el cuadro número 11. Para los diferentes subgrupos del grupo A en recién nacidos y en adultos se encuentran menos sitios antigéni

CUADRO N°. 11

NUMERO DE SITIOS ANTIGENICOS EN EL ERITROCITO

ADULTO

A ₁	810 000
A ₂	240 000
A ₁ B	460 000
A ₂ B	120 000

RECIEN NACIDOS

A ₁	250 000
A ₂	140 000
A ₁ B	120 000
A ₂ B	50 000

C.M.N. I.M.S.S. (84).

cos, (47), y se encuentran más lejos entre sí. (7).

Se penso que la poca cantidad de sitios antigénicos se debia a la frecuencia de las enzimas transferasas específicas; pero en 1978 Romano y col. y por otro lado Schenkey-Brunner encontraron que algunos sueros de cordón tenían niveles de transferasas específicas A o B tan altas como en el adulto, pero que sus células contenían pocos sitios antigénicos A o B debido a que carecian del sustrato sobre la superficie de la membrana de las células rojas. Schenkel-Brunner después sugirieron que la diferencia en la membrana de las células rojas de adulto y recién nacido era debido a la diferente estructura de los carbohidratos de los glicoconjugados ligados a la membrana. Las cadenas de carbohidratos son más cortas y sin ramificaciones en las células rojas de cordón y hay menor cantidad de sitios antigénicos por célula, explicando el curso leve de la enfermedad, además de la variabilidad de la prueba de Coombs directa, y la mínima alteración de la vida del eritrocito que se observa en la EHRN ABO. (7), (78).

La diversidad de los sitios antigénicos fetales y neonatales, su concentración disminuida y su diferente antigenicidad, (7), (26), comparados con los antígenos de los adultos, ofrecen una protección contra la interacción de los anticuerpos maternos. Por ejemplo, el antígeno A_1 no esta siempre completamente desarrollado al nacimiento. (7).

Es más fuerte el antígeno en las niñas que en los niños, debido a su mayor desarrollo fisiológico y esquelético. El desarrollo de los recién nacidos a término está asociado con el peso al nacer y la fuerza del antígeno que aumenta conforme el desarrollo fetal. Esto explica la alta frecuencia de la EHRN ABO en niñas que en niños. Por otro lado, se reporta que la

ictericia fisiológica es más frecuente en niños que en niñas, esto resulta por el diferente desarrollo de los sexos. Se espera un incremento en la destrucción de los eritrocitos fetales al final del embarazo y a los primeros días de nacido por el aumento de la fuerza del antígeno durante la vida fetal. (26).

Entre niños del grupo A nacidos a término se determina una variación bastante grande en la fuerza del antígeno, conociendo el título de anticuerpos anti-A que cruzan la barrera placentaria, un niño con un antígeno relativamente débil no muestra efectos adversos, en comparación a los que tienen un antígeno relativamente fuerte que pueden demostrar signos de enfermedad hemolítica, y explica la relación cuantitativa disminuida entre el título de anticuerpos maternos y el proceso hemolítico seguido. (26).

La incompatibilidad A_1 es más severa que la B y la A_2 , siendo esta última de menor incidencia que ocasiona enfermedad hemolítica, debido al desarrollo del aglutinógeno. Sin embargo, la primera es más severa que la incompatibilidad B y puede explicarse por el título de anti-A más alto que el anti-B. (52). Se ha demostrado que niños A_2 tienen EHRN y su curso clínico puede ser tan severo como la EHRN por anti- A_1 . Grundbacher sugirió que las células A o B que se producen más tarde en la vida fetal tienen antígenos más fuertes A y B, y como resultado, las células rojas más jóvenes pueden ser destruidas más rápidamente que las células más viejas. (78).

Los niños incompatibles de madres del grupo O fueron más fuertemente afectados que los del grupo A o B. Esto puede ser debido a que los individuos del grupo O son más sensibles a los antígenos incompatibles que los miembros del grupo A y B siendo que los anticuerpos formados pueden ser

más fuertes. (52).

La ictericia de los recién nacidos puede ser debido a prematurez, causada por la inmadurez del sistema enzimático del hígado. incompatibilidad de grupo sanguíneo feto-materna, y septicemia. La inmunización Rh^o(D), particularmente severa puede primero dar a luz al prematuro. (28).

El hígado de un niño prematuro es deficiente en la enzima glucuronil transferasa, por lo cual la conjugación de la bilirrubina no es eficiente, y las complicaciones neonatales tales como asfixia, acidosis, hipoglicemia, hipotermia e infecciones solo incrementa el riesgo de ictericia, así como la incompatibilidad ABO y el poco contenido de albúmina hace que no sean evaluados completamente y que el riesgo de kernicterus incremente, aunque los niveles de bilirrubina en suero no sean muy elevados. (28).

Hay una asociación de la ictericia con el menor peso al nacer, (47), la EHRN ABO en niños de menor peso al nacer les ocasiona una anemia severa, reticulocitosis, esferocitosis, y una fragilidad marcada de las células rojas, al igual que con la prematurez, resulta una ictericia muy severa que no es detectada por la alta incidencia de esas alteraciones hematológicas, pudiendo requerir exsanguinotransfusiones o simples transfusiones en comparación con lo reportado en los niños de término que tienen EHRN ABO. La In tian Council of Medical Research en su boletín informativo estableció que el peso al nacer de 2.25 kg es usado con un criterio de prematurez. (28).

Se determino que las niñas tienen concentraciones más altas de isoanticuerpos que los niños, (27), y que el antígeno A es mucho más débil en los recién nacidos que en los adultos; esto constituye un factor protector en las células rojas fetales contra los anticuerpos maternos que cruzan la

barrera placentaria. (26), (78).

Los antígenos A y B se encuentran presentes en todas las células de los tejidos del cuerpo al igual que en la placenta; por lo cual algunos investigadores especulan que esos antígenos de las células no rojas funcionan como filtros fisiológicos, adsorbiendo los diversos anticuerpos intracelularmente. (7), (78).

La adsorción de anticuerpos inmunes a la placenta o a las sustancias tisulares del grupo ABO o las secreciones forman un conjunto de "Mecanismos Protectores", de importancia variable e impredecible en cada caso, que reduce la cantidad de "anticuerpos libres" y la capacidad de fijación a la membrana de los hematíes fetales, así como el desarrollo de los antígenos ABO en las células rojas del niño, juegan un papel importante en la EHRN ABO; o negando los efectos del alto título de anticuerpos ABO IgG (78) dificultando el diagnóstico de la afectación neonatal. (4).

Los niños incompatibles ABO parecen estar protegidos de una hemólisis constante y severa debido al número y afinidad decrecida de los antígenos de las células rojas y por la presencia de las sustancias del grupo A/B que están presentes en el suero y en todos los tejidos compitiendo con las células rojas sanguíneas por los anticuerpos maternos. (18).

Se piensa que el estado secretor de muchos individuos es otro mecanismo protector, y en adición a los antígenos de la placenta y de los tejidos tisulares se pueden neutralizar los anticuerpos maternos antes de alcanzar los eritrocitos fetales. La capacidad secretora está presente al nacimiento, pero, la enfermedad hemolítica sin embargo, es vista igualmente en secretores y no secretores. (7), (58). Además, el estado secretor ABH de los

niños no tienen ningún efecto en los niveles de isoanticuerpos de la madre. (27).

En la evolución del feto y/o neonato, el "mecanismo protector" los protege para que sean sanos en presencia de niveles moderados de anticuerpos anti-A o -B, ya que la producción de los antígenos A o B son débilmente desarrollados. Sin embargo, en algunos niños los antígenos A o B se desarrollan fuertemente y una proporción de sus células son destruidas, manifestandose la enfermedad hemolítica en cualquier tiempo de la vida fetal. (26).

Hubinont, Farrell, Zlatnik, Mollison, Cutbush, cols. mencionan que a diferencia de la enfermedad Rh^o(D), no hay medida práctica para monitorear el suero materno prenatal en la EHRN ABO debido a que los anticuerpos son naturales, a la diferente cantidad de antígenos, y a la gran cantidad de antígenos determinados en otras células fetales diferentes a las células rojas sanguíneas que pueden adsorber potencialmente los anticuerpos maternos y proteger los eritrocitos fetales.

Mollison, Cutbush, y otros cols. han incinuado que teniendo a un niño con enfermedad hemolítica ABO existe un gran riesgo al concebir otro niño, Wiener establecio que "una vez ocurrida la enfermedad hemolítica ABO en una familia con excepción rara todos los niños futuros son afectados a menos que ellos sean del grupo O". (35).

La enfermedad hemolítica del recién nacido ABO presenta un amplio espectro clínico debido a la hemólisis de las células rojas del niño, ya que, aunque él esta sensibilizado y sus células son destruidas por el complejo antígeno-anticuerpo, esto puede no manifestarse clínicamente; sin embargo,

en algunas ocasiones esto puede manifestarse en diferentes formas; algunas veces se presenta en forma moderada y otras en forma grave. (18).

En general el mecanismo protector es suficiente para prevenir la hemólisis de las células rojas sanguíneas en el feto y/o en el recién nacido. La transfusión del mismo grupo sanguíneo ABO y Rh^o(D) para niños con incompatibilidad materno fetal ABO puede en ciertos casos, trastornar este mecanismo protector y dar como resultado la destrucción de las células rojas sanguíneas del niño. Estos niños cuando nacen al realizarles la prueba de antiglobulina directa sale negativa, pero cuando se transfunden con su mismo grupo sanguíneo y se les vuelve a realizar la prueba esta sale débilmente positiva. Este tipo de transfusión para una EHRN ABO irreconocida puede ser tan peligrosa que ocasione el kernicterus o incluso la muerte del recién nacido. (18).

Las células rojas sanguíneas empaquetadas del grupo sanguíneo O y del mismo Rh^o(D) del niño, cuando son transfundidas a un niño que presenta la enfermedad hemolítica ABO tienen una supervivencia normal, y el uso de este tipo de células evita la posibilidad de una reacción transfusional debido a que la EHRN ABO no fue reconocida. No se recomienda el uso rutinario de la sangre del grupo O en todos los neonatos que requieran de transfusión, debido a que no todos los niños del grupo sanguíneo A o B son hijos de madres con incompatibilidad materno fetal, aunque sí se recomienda en niños de madres incompatibles ABO. (18).

La destrucción de los eritrocitos A o B en el adulto es llevada a cabo por lisis intravascular por cualquier reacción de aglutinación mediada por la inmunoglobulina IgM y subsecuente lisis inducida por el complemento

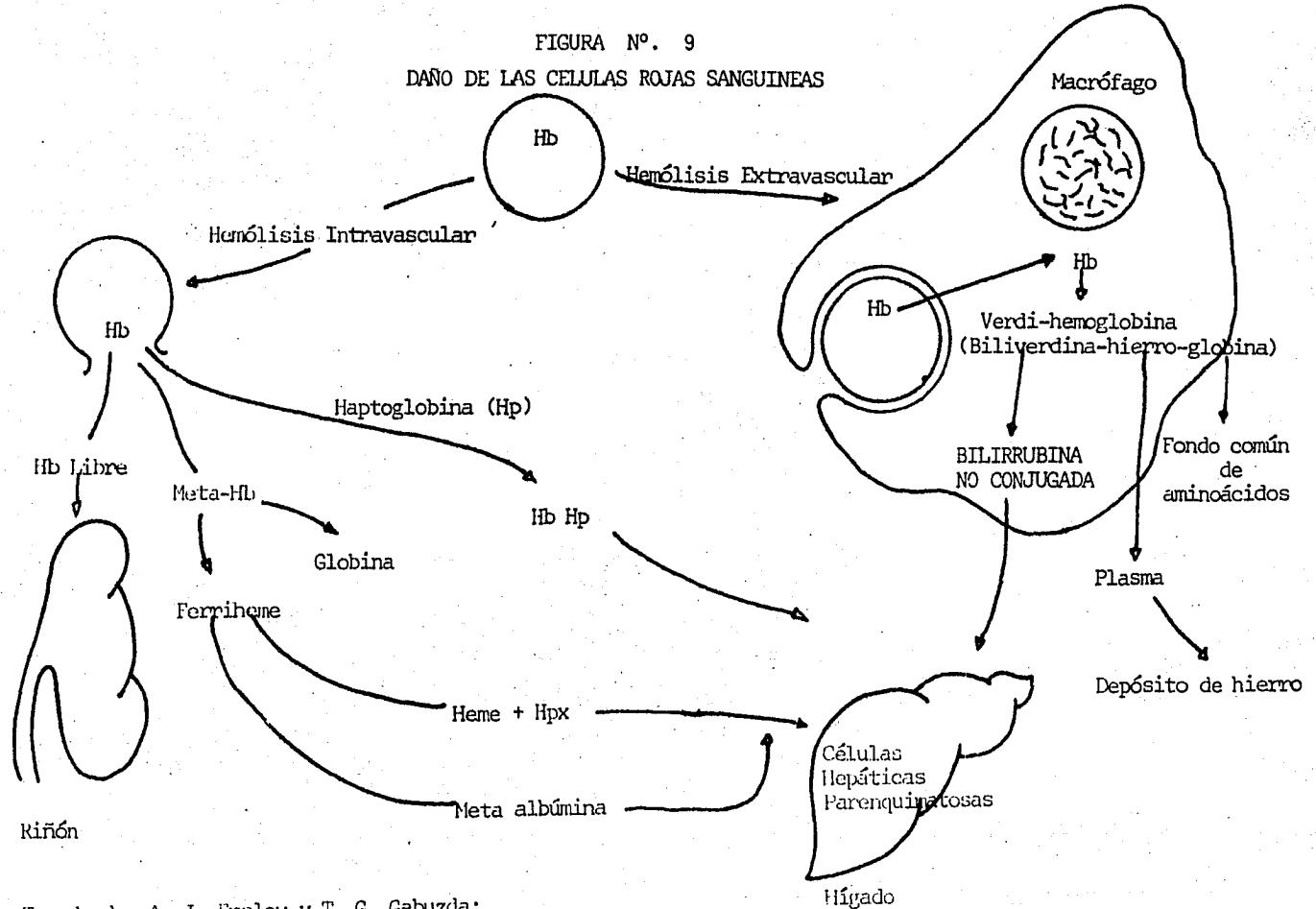
a diferencia de la destrucción de los eritrocitos en el neonato que es llevada a cabo por la hemólisis extravascular mediada por la inmunoglobulina IgG. (7).

El tamaño pequeño de la molécula de inmunoglobulina IgG, combinada con el número pequeño de sitios antigénicos no facilita que se lleve a cabo la aglutinación o fijación de complemento. Las células rojas sanguíneas cubiertas con inmunoglobulina IgG son atrapadas en el bazo por los macrófagos, causando una deformación en la membrana de los eritrocitos y transformándolos en esferocitos y liberándolos a la circulación para su futura destrucción. Cuando las células rojas sanguíneas están sensibilizadas con esta inmunoglobulina pueden ser captadas también por los macrófagos a través de sus receptores para la fracción Fc de la inmunoglobulina y ocasionar así su destrucción, como se puede observar en la figura número 9. (47).

En adición a los factores antes mencionados, cuando hay una menor concentración de glucosa y un menor pH en la sangre ocasiona la destrucción local de los glóbulos rojos detenidos en el bazo, por la acción de las enzimas de la digestión esplénica de los macrófagos se lleva a cabo la liberación de la globina y del grupo hem; posteriormente por medio de la enzima microsona hem oxigenasa es catalizada la degradación del grupo hem a hierro, monóxido de carbono, y un pigmento verdoso llamado biliverdina. La biliverdina por medio de la acción de la enzima bilirrubin-reductasa es convertida en bilirrubina. (7), (79).

Además de todo lo anterior, las altas concentraciones de fibrinógeno en el plasma de los recién nacidos que tienen la enfermedad hemolítica del recién nacido ABO puede ser un factor que favorezca la reacción de auto-

FIGURA N°. 9
DAÑO DE LAS CELULAS ROJAS SANGUINEAS



Tomado de: A. J. Erslev y T. G. Gabuzda:
Pathophysiology of blood, 2nd. Ed. W. B.
Saunders Co. 1979.

aglutinación de los eritrocitos sensibilizados para incrementar la destrucción de las células rojas y aumentar la velocidad de sedimentación. La causa del incremento no es conocida. Una posibilidad es la deshidratación significativa debido a la fototerapia. (62).

9.2.1. MANIFESTACIONES CLINICAS DE LA EHRN ABO.

La EHRN ABO afecta el primer niño nacido aproximadamente en un 50% de los casos. Es poco común que múltiples hermanos sean afectados con igual severidad. (7), (78).

La explicación física más común en la incompatibilidad ABO, es primeramente el comienzo de la enfermedad con la ictericia de variable severidad. Se ha reportado hydrops, pero es extremadamente raro, por lo cual se busca siempre algún otro estímulo como transfusión feto-materna crónica o incompatibilidad Rh^o(D). El neonato con EHRN ABO usualmente nace vigoroso y sano, a menos que no se trate, los valores de bilirrubina suben tan altos que pueden causar kernicterus; debido a la infrecuente anemia, la palidez no es un signo frecuente; puede ser que aumente el hígado, bazo, o ambos, en una forma moderada pero no de la magnitud vista en la EHRN Rh^o(D). (7). Hsia, Tisdale y cols. sugirieron que la sobrecarga del pigmento causa estasis y obstruye completamente el canalículo biliar. (68).

9.2.2. HALLAZGOS DE LABORATORIO DE LA EHRN ABO.

Los signos clínicos de la EHRN ABO (ictericia y anemia) pueden ser interpretados erróneamente, porque muchos niños, especialmente los de pretérmino, son ictericos dentro de las 48 h y es muy frecuente que el hematocri

to se encuentra por debajo de los valores de referencia debido al muestreo sanguíneo. (18).

Para diferenciar la EHRN ABO se usan los siguientes parámetros: niveles de bilirrubina en cordón, hematocrito, hemoglobina, cuenta de reticulocitos, condiciones clínicas al nacer, drogas que se administraron durante el embarazo y la anestesia durante el parto. Estos datos pueden ser obtenidos dentro de las primeras 12 h de nacido, y así clasificar a los niños de poco y alto riesgo. (54).

En la EHRN ABO hay una variable elevación de la fracción de bilirrubina indirecta, como en cualquier enfermedad hemolítica, el valor absoluto depende de la edad en horas o días de nacido, la habilidad del hígado, la severidad de la reacción hemolítica, y la influencia del tratamiento; en la enfermedad clínica, los valores de bilirrubina indirecta están entre 10 y 12 mg/dl en 24 h, sin embargo, los valores aproximados a 20 mg/dl son vistos en casos de hemólisis severa. Los valores menores son clínicamente insignificantes ocurriendo con moderada enfermedad. La anemia severa usualmente es rara. (7).

Aunque la concentración de la hemoglobina es usualmente normal, la evidencia de hemólisis y la elevación significativa de la cuenta de reticulocitos (25 - 30%) puede ser vista, al igual que los esferocitos en la sangre periférica. Esto es el resultado de la interacción antígeno-anticuerpo y la alteración estérica de macrófagos esplénicos. (7).

La anemia en la EHRN ha sido propuesto ser un factor causativo en el desarrollo de la hiperbilirrubinemia directa adjunta a la indirecta. Se ha reportado una incidencia del 3% de la hiperbilirrubinemia directa compli-

cando la EHRN ABO similar a lo visto en la EHRN Rh^o(D), (68), se dijo que cuando la concentración de bilirrubina directa era mayor de 1 mg/dl, el paciente reflejaba una ictericia obstructiva y era más frecuente en los pacientes graves, (30), la prueba de Coombs es muy variable, se ha visto que cuando es positiva los niños heteroespecíficos tienen un mayor riesgo de ictericia. (13), (73). Cuando esta prueba es positiva en sangre de cordón tiene valor solamente si el niño tiene síntomas de EHRN. (78).

Reiquam y col. determinaron que hay una correlación positiva entre la anemia y la necrosis del hígado, la degeneración de células gigantes, y otras evidencias de daño hepático al igual que en la hiperbilirrubinemia directa en la EHRN Rh^o(D). (68).

Oppet, Nakai y col. sugirieron que la hematopoesis extramedular causada por anemia y hemólisis apresura y daña los canaliculos intrahepáticos. Hegyi y col. notaron que el hematocrito de los niños con hiperbilirrubinemia conjugada debido a la EHRN fue significativamente menor que en los niños que no presentaban esta complicación, (68), además hay un aumento en la concentración de fibrinógeno. (62).

Se encontró que en los Caucásicos y Negros los niveles de bilirrubina fueron mayores de 10 mg/dl. (54).

9.2.3. DIAGNOSTICO DIFERENCIAL DE LA EHRN ABO.

El diagnóstico de la EHRN ABO es frecuentemente difícil, especialmente en los niños afectados ligeramente. Dentro de las múltiples explicaciones que se han dado con respecto a la prueba de Coombs del por qué es negativa en la EHRN ABO es que hay una unión "débil" antígeno-anticuerpo. La

presencia de anticuerpos IgG anti-A y -B en el suero materno tiene poco valor diagnóstico, aunque títulos elevados han sido asociados con la incidencia incrementada en la EHRN ABO. (18).

El anticuerpo anti-A IgG fue reportado ser capaz de hemolizar células rojas, lo cual sugirió que la prueba más apropiada para predecir la EHRN ABO fue la evaluación de la IgG en el suero prenatal. (78).

Por todo lo anterior, el diagnóstico diferencial de la EHRN ABO es detectar primero la enfermedad hemolítica, la ictericia clínica, la anemia variable, los reticulocitos, aunque pueden ser causados por los diferentes tipos de EHRN. (7).

9.2.4. DIAGNOSTICO DE LA EHRN ABO.

Las pruebas prenatales para predecir la EHRN ABO son de poco valor, por lo cual no son realizadas en muchos hospitales. (78).

Un prerrequisito para el diagnóstico de la EHRN ABO es la demostración de un embarazo heteroespecífico, puesto que la mayoría de los neonatos afectados no tienen anemia severa ni hiperbilirrubinemia extrema, el diagnóstico exacto depende de las pruebas serológicas específicas y de la exclusión de otro proceso hemolítico, el examen serológico de la madre no es útil ya que no confirma ni cuantifica la enfermedad hemolítica del feto, (7), aunque Voak y Bowlwy concluyeron que mujeres con anticuerpos ABO de alto título (256) demostrados con la prueba de 2-mercapto etanol y/o he molisinas ABO activas a 37°C fueron consideradas como de "riesgo" para dar a luz un niño con EHRN ABO. (78).

El análisis serológico de la sangre de cordón puede ser usada para la

detección de niños que tienen el riesgo de ictericia severa, (13), y se puede predecir el cuadro clínico de los niños afectados. (13), (57). Sin embargo, el valor de la realización del tipo ABO y de la prueba de antiglobulina directa en sangre de cordón de todos los niños A y B nacidos de madres O puede ser injustificado. (78).

En la EHRN ABO la prueba de antiglobulina directa es algunas veces débilmente positiva o negativa en las células rojas de cordón de niños afectados y pueden ser eluidos los anticuerpos de las células rojas. (78).

Haberman y col. propusieron que las células rojas de cordón tienen pocas moléculas de anticuerpos en su superficie y que se encuentran en unas vesículas intracelular, cuando se hace el eluido los anticuerpos son soltados de la vesícula y de la superficie de las células rojas, produciendo un eluido fuertemente positivo. (78).

La prueba de Coombs directa en sangre de cordón o sangre neonatal no diagnostica la EHRN ABO, (78), aunque en un 30-50% es positiva o débilmente positiva y decrece cuando el neonato tiene más de 24 h de nacido. La incompatibilidad ABO puede ser confirmada con la presencia de anti-A o anti-B libres en el suero y/o en el despegado de los eritrocitos del niño, establece el diagnóstico pero no cuantifica el proceso hemolítico. (7).

La presencia de anticuerpos ABO de las células rojas del niño, o en el eluido de las células rojas no indica que el niño tenga EHRN ABO. Todos los niños del grupo A o B nacidos de madres del grupo O tienen anticuerpos en sus células rojas si las técnicas usadas son bastantes sensibles para detectar estos anticuerpos. (78).

Estudios previos han demostrado una pobre correlación entre las prue-

bas serológicas en sangre de cordón y el curso clínico. (13). La prueba de Coombs solo se aprovecha en la EHRN ABO para indicar si el neonato recibe tratamiento después de la evaluación de la sangre de cordón y de los niveles de bilirrubina en sangre periférica. (57).

Cuando los niños tienen una prueba de antiglobulina directa positiva y la evidencia en el laboratorio de la sensibilización eritrocitaria se tiene la EHRN ABO. Sin embargo, la prueba de Coombs directa en estos casos carece de importancia, ya que no predice la severidad de la enfermedad. (13).

Romano y col. determinaron que la cantidad de IgG anti-A ligada a las células rojas de los niños que sufren EHRN ABO fue de 0.25 - 3.5 μ g/ml, un valor de 5 a 10 veces menor que la cantidad de anticuerpos IgG anti-D determinados en las células rojas de los niños sufriendo de EHRN Rh. (78).

Los niveles de bilirrubina en cordón es un indicador bueno de los niveles en suero, cuando los valores son iguales a 4 mg/dl no van a necesitar de exanguinotransfusión debido tal vez a la fototerapia que se aplica durante el curso natural de la EHRN ABO. (57).

La cuenta de reticulocitos en cordón menores o mayores de 8% son significantes cuando se comparan con los niveles máximos de bilirrubina pudiendo revelar la EHRN ABO clínicamente, aunque la respuesta individual varíe. (57).

Se ha encontrado que cuando se hace el estudio del eluido caliente un 70% es negativo, no obstante se encuentran algunos grados de sensibilización de las células rojas. (18). Una prueba semicuantitativa del eluido caliente de las células de cordón nos puede predecir la severidad de la en-

fermedad, cuando se presenta una fuerte reacción, los niveles de bilirrubina son elevados y necesitan de terapia. (13). Además, la determinación genética es de importancia obvia para determinar el riesgo de la EHRN ABO. (35).

Los eluidos han venido a ser de rutina en más laboratorios para la investigación de la EHRN ABO, dando buenos resultados el método de elusión con éter y xileno para la demostración de anticuerpos IgG ABO en sangre de cordón. Siendo de valor cuando la muestra materna no es proporcionada y si las células rojas del niño tienen la prueba de antiglobulina directa positiva, confirmando así el diagnóstico de EHRN ABO. (78).

Una alta incidencia en la EHRN ABO ha sido sugerida durante varios años para el tipo sanguíneo B, aunque la severidad no es apreciable ni diferente a la del grupo A; una comparación de niños del grupo A y grupo B con Coombs positivo revelan una alta incidencia los niños del grupo B que cursan con EHRN, independientemente de la influencia racial. (57).

Una posible explicación del incremento de las pruebas de Coombs positivas en niños negros y del tipo B sin aumentar la severidad de la enfermedad hemolítica puede estar relacionada al número de sitios antigénicos en las células rojas sanguíneas. (57).

En el momento del parto, como rutina, se deben de tipar las células de cordón y hacer la prueba de Coombs directa. Los obstétricos deben de alertar a los pediatras con el diagnóstico y la relación de la terapia para que los niveles de bilirrubina no se eleven y evitar así la transfusión. El recién nacido de alto riesgo debe ser identificado, observandolo de cerca y no permitir la salida del hospital hasta completar las pruebas adecua

das. (35).

Whyte & Grahan demostraron claramente la prueba de antiglobulina directa negativa y un eluido positivo, no teniendo más hiperbilirrubinemia que los controles. (73).

Se debe de tener presente que los hermanos con igual grupo sanguíneo que el primer niño afectado con EHRN ABO tienen diagnosticada de antemano la EHRN ABO en un 88%. Se encuentran afectados en un 100% si la incompatibilidad es O-B y un 77% para O-A, y de los niños afectados el 62% requirieron terapia. (1976). (35).

9.2.5. MANEJO DE LA EHRN ABO.

El fundamental manejo de la incompatibilidad ABO es la vigilancia de la bilirrubina, fototerapia y/o exsanguinotransfusión, (7), (35), (57), o simple transfusión. (35). La mayoría de los niños con EHRN ABO no tienen hiperbilirrubinemia clínicamente significativa; aproximadamente el 10% requieren de fototerapia y ocasionalmente requieren de exsanguinotransfusión. (7). Sin olvidarse que un pequeño porcentaje puede resultar con kernicterus. (7), (35).

Los niños con menor peso al nacer ($< 2\ 500\ g$) y en presencia de ciertos factores como menor concentración de proteínas y acidosis ayudan a la toxicidad de la bilirrubina para desarrollar la EHRN. (7).

Algunos investigadores han intentado correlacionar una serie de factores como son: Coombs directo positivo, bilirrubinas y reticulocitos altos en cordón, la velocidad con que se elevan las bilirrubinas en el primer día, la necesidad de fototerapia y exsanguinotransfusión, (7), junto con

el sexo, raza, embarazo, peso al nacer, y el grupo sanguíneo no son significantes para el éxito clínico. (13).

La anemia es rara en la EHRN ABO, cuando esto sucede, un simple paquete de células rojas sanguíneas del grupo O Rh^o(D) compatible es transfundido. La anemia latente vista en la EHRN Rh^o(D) no se presenta. Las indicaciones de la exsanguinotransfusión son las mismas que en otras enfermedades hemolíticas, la importancia de que se haga precozmente para evitar las subsecuentes exsanguinotransfusiones no está definida, y la elevación de las bilirrubinas no es predecible como en la EHRN Rh^o(D). (7).

La hemólisis fetal significativa no ocurre, por eso, la amniocentesis no está indicada, pero sí se deben de buscar antecedentes de EHRN ABO severa en niños anteriores; (7); aunque niños incompatibles nacidos subsecuentemente de un niño afectado puede no ser afectado o presentar un proceso leve. (13), (26).

Las células tipo específicas ricas en antígenos de superficie han causado reacción hemolítica severa, por lo que se recomienda usar células rojas sanguíneas congeladas, lavadas y reconstituidas con plasma AB. (7).

El diagnóstico es necesario para prevenir inapropiado uso de la fototerapia en los niños cuyos niveles de bilirrubina no exceden los límites normales, causando una indevida separación del niño de la madre durante el período crítico del vínculo de la formación materno fetal. (57).

Se deben de preparar a los padres para la liberación de un niño de alto riesgo, siendo la responsabilidad del obstétrico, debiendo también revisar si hay niños previamente afectados; si los hay el clínico debe tener cuidado del manejo de estos niños. (35).

Si la hemólisis es grave se presenta en el período fetal, se puede hacer una transfusión intrauterina o llevar a cabo un programa intensivo de cambio de plasma. La plasmaferesis es efectiva reduciendo la cantidad de anticuerpos maternos y, en algunos casos la cantidad de bilirrubina en el líquido amniótico; pero hay un continuo riesgo para desarrollar hepatitis. (60).

9.2.6. RECOMENDACIONES SEROLOGICAS EN LA INVESTIGACION DE LA EHRN ABO.

Se recomienda obtener una muestra de sangre coagulada de todas las mujeres unas horas antes de dar a luz. Una muestra de sangre coagulada y una muestra no coagulada es obtenida del cordón umbilical de todos los niños, teniendo cuidado de no contaminar la muestra. La muestra de sangre no coagulada del cordón se conserva en la luz para reducir los niveles de bilirrubina. Todas las muestras son enviadas a laboratorio y guardadas por lo menos 7 días. (78).

Se debe de realizar el grupo ABO y Rh^o(D) y la búsqueda de anticuerpos en todas las madres. No es necesario hacer el grupo ABO y Rh^o(D) a todas las sangres de cordón. La prueba de antiglobulina directa se debe de realizar si el médico sospecha de EHRN, si es positiva se debe avisar inmediatamente. (78).

Si la madre es del grupo O, se debe de hacer el grupo sanguíneo ABO a la sangre del cordón del niño, y si el niño es A o B, se realiza la prueba de Coombs y si resulta positiva se avisa al médico inmediatamente, aunque puede generar ésto falsas alarmas, pero si los niños tienen síntomas clínicos o bilirrubinas altas puede tener la EHRN. (78).

Son de mayor importancia aquellos niños extraviados que van a desarrollar EHRN ABO después de 24 h de nacido. Esto es de importancia particular en niños negros. (78).

9.3. ALOINMUNIZACION MATERNO FETAL Rh^o(D) Y OTROS ANTIGENOS Rh-Hr.

Los anticuerpos irregulares no ABO más frecuentes son los del sistema Rh (Rhesus), que no ocasionan EHRN en el primer embarazo si no han sido expuestas al antígeno D. (80). Cuando el título de anticuerpos Rh^o(D) es alto se puede liberar al niño 2 ó 3 semanas antes de término y junto con las transfusiones de sangre Rh negativa ha disminuido la mortalidad de los niños con EHRN. Posteriormente los anticuerpos Rh^o(D) libres maternos fueron determinados en la sangre del niño siendo responsables de su enfermedad y es iniciada la exsanguinotransfusión disminuyendo más la mortalidad. (6).

La incompatibilidad por el antígeno Rh^o(D) ocurre menos frecuentemente que la incompatibilidad ABO, pero, patofisiológicamente es más importante y ocurre en el 12% de los embarazos con enfermedad hemolítica, y aproximadamente el 14% de los embarazos involucrados resultan partos muertos; de los nacimientos vivos sensibilizados el 40% no requieren terapia y el resto presenta grados variables de complicación. (7). Estadísticamente los títulos de anticuerpos anti-D tienden a elevarse con embarazos sucesivos y los niños son más afectados aunque hay sus excepciones. (6), (51).

Con la introducción de la exsanguinotransfusión se mejoro la supervivencia de los niños junto con la inyección de la inmunoglobulina anti-D post-parto vino una declinación rápida en la incidencia de la enfermedad y la mortalidad. (16).

Fetos y neonatos muertos son asociados a la aloinmunización por el antígeno D y su declinación se atribuye al pequeño número de la familia, y a la aplicación de la inmunoglobulina anti-D a madres Rh^o(D) negativas inmediatamente después de liberar un niño Rh^o(D) positivo, (15), (17), (45), (51), observándose desde 1970. (17). Sin embargo hay un 10% de fracaso, y algunas "inexplicables" sensibilizaciones en primigestas, (3), siendo las pacientes más graves fallando la profilaxis anti-D debido a un error humano. (5), (16). En una reunión en la Universidad de Mc Moster en 1977 reportaron que la inmunoglobulina es casi el 90% efectiva para prevenir la inmunización Rh^o(D) del embarazo. (16).

Stuart y cols. reportaron que un trauma brusco o espontáneo del abdomen embarazado puede ocasionar un daño serio al feto y a la placenta y que la sangría feto-materna antes del parto es la causa usual de la inmunización en la primigesta. Aproximadamente la mitad de las mujeres embarazadas han tenido hemorragias feto-maternas después de liberar. (51).

La presencia de anti-D durante el primer embarazo es raro y puede ser debido a transfusión previa, a pequeñas hemorragias transplacentarias después de las 28 semanas, o bien a heterohemoterapia para el tratamiento de una variedad de desordenes. (80).

La sensibilización durante el primer embarazo usualmente ocurre a las 29 semanas por lo cual la inmunoglobulina anti-D se debe de dar entre las 28 y 34 semanas de gestación para reducir la incidencia de sensibilización. (5), (16). Aunque, Mollison reporto que cuando además hay incompatibilidad ABO entre madre y feto, hay primero la destrucción de las células rojas fetales que logran entrar a la circulación materna, previniendo el

desarrollo de anticuerpos anti-D. Scott y col. reportaron que hay una alta incidencia de niños masculinos causando sensibilización Rh^o(D) junto con el abdomen y la conexión de la membrana corioidea dañados, y la compatibilidad en el sistema ABO en el primer niño nacido Rh^o(D) positivo ocasiona un alto riesgo de sensibilización. (51).

Cuando hay sensibilización durante el primer embarazo la inmunoglobulina anti-D se da post-natalmente durante 4 tiempos, aunque hay más ventajas cuando el tratamiento se hace prenatal. Tobey sugirió que la inyección prenatal previene 6 de 8 muertes perinatales por enfermedad hemolítica cada año. También indico que la inmunoglobulina es obtenida por plasmaféresis de donadores inyectados con células Rh^o(D) positivas y no es riesgoso. (16).

El tiempo ideal para la administración de la inmunoglobulina es a las 28 semanas, pero en su práctica hay variación. La desaparición del anti-D de la circulación materna y fetal fue determinado relacionando la actividad del anticuerpo anti-D en el intervalo de la inyección en la madre y la liberación del bebe. El protocolo para la profilaxis es de 24 μ g de inmunoglobulina a las 28 semanas de gestación o tan cerca como las circunstancias lo permitan. (56).

En casos de inmunización Rh^o(D) el camino más provechoso para determinar la severidad de la enfermedad es por espectrofotometría seriada del líquido amniótico. (64). Sin embargo, el procedimiento de amniocentesis y las cesarias previas en pacientes Rh^o(D) negativos incrementa el riesgo y título de anticuerpos. (51).

Fritchard, Mac Donald, Bishop, Bowes, Fong y col. agregaron que en ca

sos severos de isoinmunización Rh^o(D) con hydrops fetal es inútil transfundir intrauterinamente o inducir la liberación debido a que el feto tiene poca oportunidad de sobrevivir. La muerte in útero es común y los niños que sobreviven presentan problemas durante el período neonatal a pesar de la exsanguinotransfusión. (64). El hydrops fetal puede ser sospechado cuando la historia de la madre revela embarazos con isoinmunización por Rh^o(D) se vera que requirieron de exsanguinotransfusión. El análisis del líquido amniótico presenta valores altos en el análisis espectrofotométrico; además hay edema en el tejido subcutáneo, ascitis en el abdomen y una placenta edematosa gruesa demostrada por amniografía y ultrasonido. Se deben de medir los movimientos fetales ya que se encuentran disminuidos cuando el feto esta afectado severamente. (64).

El anti-D puede ser producido no solo por las madres Rh^o(D) negativas sino también por las madres Rh^o(D) positivas y Rh^o(D^u) positivas que les falta parte de su mosaico Rh^o(D). (37).

En muchos sujetos D^u el antígeno D no difiere cualitativamente del antígeno D normal, solo existen pocos sitios antigénicos por célula; y en otros sujetos están ausentes algunos determinantes antigénicos del D normal y solamente estos últimos son capaces de hacer un anticuerpo contra esos determinantes que le faltan al antígeno D. Algunos sujetos D^u tienen ambos defectos cuantitativos y cualitativos, pueden formar anticuerpos contra los determinantes ausentes. (37), (47).

El D^u fue descrito por Stratton. Estas células pueden reaccionar si son de alto grado en forma importante aunque se menciona que en la mayoría de las veces solo toman el 7.25% del anti-D. (47).

Existen diversos grados de D^u . Los de bajo grado detectados solo por la prueba indirecta de la antiglobulina humana o por medios enzimáticos y los de alto grado difíciles de distinguir de antígeno D normal. (47).

El fenómeno llamado "D con anti-D" es atribuido a la estructura del mosaico del antígeno D, esto es, las células rojas de ciertos individuos carecen de una porción del antígeno D, y la transfusión de células rojas normales o embarazos continuos pueden producir anti-D dirigido contra la porción del antígeno D extraviado de sus células rojas. (37).

Hay dos clasificaciones de la variedad D. Wiener, Unger y Sacks subdividieron al antígeno $Rh^o(D)$ en un mínimo de cuatro factores (Rh^A , Rh^B , Rh^C , y Rh^D), uno o más pueden estar ausentes en las células rojas de una persona $Rh^o(D)$ positivo que hizo aloanti-D pudiendo ser la causa de la EHRN: (37), (38); la segunda clasificación es la de Tippett, él separa la variedad D en seis categorías (I-VI) basado en la prueba de cruce entre las células y los sueros. (37), (47). El primer reporte de un anticuerpo anti-D hecho por un individuo D positivo es de Argall siendo variedad D^u . El anti-D producido por una variedad D o una variedad D^u es clínicamente significativo, ya que ocasiona reacciones transfusionales o EHRN, aunque raramente es fatal. Como se muestra en el cuadro número 12. Se determino que casi el 50% de los fenotipos D^u carecen de una parte del mosaico $Rh^o(D)$. (37).

La variedad D^u o D no se pueden beneficiar con la profilaxis de la inmunoglobulina $Rh^o(D)$, Schneider recomienda que las madres $Rh^o(D)$ negativas D^u negativo que presentan en algun momento el D^u positivo deben de recibir dosis incrementadas de IgG anti-D después de dar a luz un niño $Rh^o(D)$ posi

CUADRO N°. 12

REPORTE DE LA EHRN DEBIDO A ANTI-D VARIEDAD D Y ANTI-D
VARIEDAD D^u DE LA MADRE

AÑO	RAZA	MADRE		NIÑO	
		FENOTIPO Rh	TITULO DE ANTI-D	AGH	COMENTARIOS
1953	Blanca	CD ^u e/cde	4	Negativa	No-EHRN.
1957	Blanca	CDe/cde	120	Fuerte	Transfundido sin perances para su recuperación.
1959	Esp/Amer India	cD ^u E/cde	4	Gemelo A 2+ Gemelo B 2+	Ictericia leve. Ictericia leve.
1959	Negra	cDe/cde	28	Positiva	No ictericia no anemia.
1960	Blanca	CD ^u e/CdE	2 000	Positiva	Transfundido; subsecuentemente normal.
1960	Negra	CDe/cde	No reportado	Fuerte	2 exsanguinotransfusiones; rápida recuperación.
1970	Blanca	CD ^u e/cde	4 096	Fuerte	2 exsanguinotransfusiones; fatal EHRN-Rh.
1974	Blanca	cD ^u e/cde	64	Fuerte	una exsanguinotransfusión.
1975	Negra	cD ^u e/cde	No reportado	Positiva	LHRN leve.
1976	Blanca	cD ^u e/cde	No reportado	Positiva	LHRN leve.
1981	Blanca	CD ^u e/cde	46	Fuerte	Una exsanguinotransfusión.

tivo. (37).

El antígeno Rh^o(D) de algunas madres carecen de las fracciones A, C, y D, y contienen solo la fracción B. Wiener, Unger y Sacks indicaron con letras minúsculas a, b, c, y d las fracciones extraviadas, quedando la anotación del Rh^o(D) de la madre como Rh₁^{acd} o Rh₁^{aBcd}. (38).

Cuando las madres son inmunizadas por subsecuentes embarazos, sus hijos pueden presentar la enfermedad hemolítica del recién nacido debido a la presencia de anticuerpos contra la fracción del antígeno Rh^o(D) que este ausente. Cuando se va a realizar la exsanguinotransfusión, es difícil encontrar sangre compatible Rh^o(D^B) positiva, por la poca frecuencia de esta sangre, y a falta de ésta puede ser usada sangre compatible Rh^o(D) negativa. Esta condición aunque es rara es de importancia práctica porque puede causar confusión durante la realización del cruce y la investigación de la EHRN. (38).

También se pueden encontrar mujeres embarazadas no transfundidas que por alguna inexplicable razón desarrollan títulos altos de anticuerpos anti-Rh^o(D) junto con otros anticuerpos Rh-Hr y no Rh-Hr, siendo asociado por Davey a una hiperrespuesta inmune Rh; ésto se ha notado en casos donde se involucran pequeñas administraciones de inmunoglobulina Rh^o(D) y en muy raros casos de aloinmunización Rh^o(D) primaria. (3).

El aumento del Rh^o(D) inmune parece estar asociado con los niveles elevados de la inmunoglobulina IgM anti-Rh^o(D), se ha sugerido que esto es más que una simple consecuencia de la respuesta inmune; Henry, Jerne, Clarke y cols. concluyeron que los niveles altos de IgM anti-D es la causa del aumento de la respuesta. Holburn y cols. dicen que no hay una evidencia de

que el aumento sea causado por anticuerpos IgM, pero se piensa que la IgM anti-D juega un papel importante en el aumento de la respuesta inmune Rh, pero ésto necesita de una mayor investigación. (3).

El tratamiento profilactico no es para prevenir la aloinmunización por otros anticuerpos diferentes al anti-D, así que se encuentran casos de EHRN por otros anticuerpos diferentes. (3).

Desde 1974 la frecuencia del anticuerpo anti-D ha sido más o menos inalterada (0-8 casos al año, promedio de 4.6 casos); sin embargo, la prevalencia de anticuerpos irregulares diferentes a anti-D es el mismo durante un período de 12 años (0-6 casos al año, promedio 2.5 casos al año); pudiendo encontrar anti-E, anti-c, anti-C, anti-c+E, anti-C+E, anti-C+S, anti-C+Fy^a, anti-Kell, anti-Fy^a, anti-Jk^a, anti-C^w, anti-Wr^a, que han requerido de exsanguinotransfusión. (17).

Giblett determino en Washington que la mitad de los anticuerpos responsables de la EHRN eran anti-c o anti-c+E. Fraser y Tovey reportaron similares resultados para el sud-oeste de Inglaterra siendo debido a anti-c. (15)'

Durante 30 años (1948-78) se encontro que un 81% de las mujeres que eran Rh^o(D) positivas y que habían sido inmunizadas tenían anticuerpos diferentes al anti-Rh^o(D) pero que se encontraban dentro del sistema Rh-Hr predominantemente anti-E, anti-c, anti-c+E. El 71% fueron anti-Kell y el 13% por anti-Fy^a, la mortalidad perinatal fue la misma (2.5-3.0%), los niños afectados con el antígeno rhesus que requirieron transfusión fue del 15% comparado con los no rhesus del 6%. En Australia Beal se determinó que los recién nacidos afectados raramente requieren de transfusión a menos

que los anticuerpos responsables sean anti-rhesus o anti-Kell. Hardy y Napier confirmaron que los niños nacidos de madres Rh negativas con anti-D son más severamente afectadas, la muerte perinatal es del 11% y la necesidad de tratamiento es de 40 - 45%, subrayando la importancia del anticuerpo anti-c como una causa de EHRN vista hoy en día. Casi el 90% de los niños tienen desarrollada la EHRN con una prueba de Coombs positiva, y el 20% necesita transfusión. Se está intentando la profilaxis con inmunoglobulina anti-c. (15), (82).

Los antígenos D, c, y E del sistema Rh-Hr son altamente inmunogénicos en ese orden. En la Ciudad de México en el período de 1980-84 se encontró que en la población general de pacientes el anticuerpo anti-E es el más frecuente con 25.4%, seguido de anti-D con 21.1%, anti-c con 13.23% y anti-e con 5.3% y otros menos frecuentes como se muestra en el cuadro número 6. (9).

Como podemos observar en este cuadro el anticuerpo anti-E es actualmente más frecuente que los anticuerpos anti-D y anti-c, ésto es debido tal vez a que los problemas con anti-D y anti-c se resuelven parcialmente en sus respectivos hospitales y estos datos no son mandados al banco central de sangre. Esto se puede comprobar con el primer trabajo que se efectuó en el Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional. (9), (61).

Por otro lado se demostró en el Hospital de Gineco-Obstetricia que el 53.2% de los anticuerpos encontrados se deben a aquellos que ocasionan EHRN con Coombs positivo, como son anti-D, anti-c, y anti-E. (9).

Hardy y Napier determinaron que la incidencia de la EHRN era en un 50% en niños nacidos de madres D-positivas con otros anticuerpos Rh dife-

CUADRO N°. 13

ESPECIFICIDAD DEL ANTICUERPO	NUMERO	%
E	96	25.4
D	80	21.16
<u>c</u>	50	13.23
e	20	5.3
JK ^a	22	5.8
C	22	5.8
Fy ^a	19	5.02
S	17	4.5
K	13	3.44
Di ^a	11	2.9
JK ^b	9	2.4
s	9	2.4
Fy ^b	8	2.11
Di ^b	2	0.53
Total	378	99.99

ANTICUERPOS MAS FRECUENTES EN LA CIUDAD DE MEXICO EN LA POBLACION GENERAL

rentes de anti-D, y un 14% de esos niños requirieron de transfusión. Los anticuerpos más comúnmente encontrados fueron anti-c y anti-E. Kornstad reporto que el 30% de los niños con una prueba de antiglobulina humana directa positiva causada por anti-c requirio de exsanguinotransfusión. Aunque el anticuerpo anti-E es el más común, ésto no implica que la EHRN sea tan frecuente como por anti-c. Esta diferencia puede ser explicada por su incidencia relativa del antígeno E, y también que algunas veces ocurre como un anticuerpo IgM. (78).

La EHRN debido a anti-e es muy rara, aunque es capaz de causar EHRN severa, pero se reporta que generalmente causa una enfermedad leve o subclínica. (78).

Por otro lado, Giblett determinó que el 93% de los casos de EHRN fueron causados por anti-D o anti-D+C; el 6% a otros anticuerpos Rh-Hr y el 1% a anticuerpos ajenos al sistema Rh-Hr. (80).

Otro anticuerpo que ocasiona EHRN es el anti-C^w, la frecuencia de este antígeno es del 2% aunque en Europa es del 7-9%. Los anticuerpos fueron identificados en el suero de la madre y en el eluido de las células rojas del niño, dando una prueba de Coombs positiva. (45).

Se encontro que una primigesta no transfundida contenia anticuerpos contra D, C, E, y Fy^a, debido a que cuando era niña fue inyectada con sangre de su padre, esto ocasiono una EHRN severa. (80).

Los exámenes de rutina prenatales para detectar anticuerpos de grupo sanguíneo irregulares no es de importancia solamente para identificar las madres que tienen niños con EHRN, sino para asegurarse que la sangre sea compatible para la madre misma cuando requiera de una transfusión, se debe

de hacer la prueba durante el embarazo, sobre todo si hay antecedentes de transfusión, entre las 28-34 semanas de embarazo. (15). Además, a medida de que se tiene un segundo embarazo con la posibilidad de requerir exsanguinotransfusión, sangres autologas congeladas se deben de preparar como una medida de precaución. (51).

9.4. COMPARACION DE LA INCOMPATIBILIDAD ABO CON LA INCOMPATIBILIDAD Rh^o(D) Y SU INTERACCION.

En 1943 Levene observo que la frecuencia de la incompatibilidad Rh^o(D) decrecio con los casamientos entre padres de niños con EHRN Rh incompatibles en el sistema ABO. El especuló y más tarde confirmó que las células fetales eran destruidas por anticuerpos anti-A, - B maternos antes de que la sensibilización por el antígeno Rh^o(D) pudiera tomar lugar. Sin embargo, en algunos casos las células incompatibles ABO sobreviven suficiente tiempo para estimular la producción de anticuerpos contra el antígeno Rh^o(D). (7).

La incompatibilidad ABO y Rh^o(D) son las causas de enfermedad hemolítica inmune en el período neonatal más frecuentes. (7).

La EHRN ABO y Rh^o(D) tienen algunos rasgos en común, pero difieren en algunos aspectos. En ambos sistemas, los anticuerpos maternos cruzan la barrera placentaria resultando la destrucción de las células fetales. En la incompatibilidad Rh^o(D), la presencia y título de anticuerpos en la circulación materna proporciona una indicación de riesgo para el feto. En la incompatibilidad ABO, sin embargo, los niveles de anticuerpos maternos son de poco valor pronóstico. El método de prevención que inhibe la formación

de anticuerpos en el sistema Rh^o(D) es inútil para el sistema ABO por la presencia regular de los anticuerpos anti-A, -B. (26).

En la incompatibilidad ABO, un niño incompatible nacido subsecuentemente a un niño afectado puede no ser afectado o puede mostrar un proceso de enfermedad leve en comparación con su hermano. Esto es diferente en la EHRN Rh^o(D) en la que la sensibilización de la madre es esencial y la severidad de la enfermedad hemolítica usualmente se incrementa con los subsecuentes embarazos. (26), (35).

La EHRN ABO difiere de la EHRN Rh^o(D) en muchos puntos como se observa en el cuadro número 14. El proceso hemolítico en la EHRN ABO puede ser manifestado al nacer, con un niño icterico severamente, pero es más común que se presente la forma leve, entre las 12 y 48 h después de nacer. En la EHRN Rh^o(D), la hemólisis comienza in útero, y al nacer el niño puede tener una hemólisis o ictericia severa. La EHRN ABO va de casos leves tratados con fototerapia a casos más severos que requirieron de exsanguinotransfusión, y puede resultar un daño neurológico permanente; por lo cual su detección y tratamiento es muy importante, pero generalmente solo requieren de fototerapia y raramente de transfusión. (78).

Con la terapia de la globulina inmune Rh^o(D), la prevalencia de la enfermedad hemolítica causada por la incompatibilidad Rh^o(D) ha decrecido, sin embargo la EHRN ABO permanece constante, es impredecible y puede afectar al primer niño que nazca a diferencia de la EHRN Rh^o(D). (35).

Aunque, tanto la EHRN por ABO como por Rh^o(D) se inicia durante cualquier tiempo de la vida fetal, se pueden manifestar de diferentes maneras dependiendo de la cantidad de anticuerpos que cruzan la barrera placenta-

CUADRO N°. 14

ENFERMEDAD HEMOLITICA DEL RECIEN NACIDO ABO CONTRA Rh°(D)

VALOR DE:	ABO	Rh°(D)
Antecedentes historicos	Ninguno	Si
Pruebas prenatales	Limitada	Si
Grupo de las células rojas sanguíneas del padre	Limitada	Si
PRUEBAS EN LA SANGRE DEL NIÑO:		
Prueba de antiglobulina di- recta en la sangre de cordón	Débilmente positiva o algunas veces negativa	Fuertemente positiva
Hemoglobina	A menudo normal al nacer	Decrece al nacer
Bilirrubina	A menudo normal al nacer Elevada a las 24-48 h	Usualmente elevada al nacer
Frotis de sangre	Esferocitosis (+++)	Esferocitosis (+)
Terapia	Rara (fototerapia y/o transfusión)	Transfusión

ria. Así generalmente, la EHRN ABO se manifiesta en el período neonatal, tan opuesto a la EHRN Rh^o(D) que se puede manifestar desde el período fetal. Hay reportes severos de muerte intrauterina, pero es inusual el hydrops fetal, como se encontro en la EHRN Rh^o(D); la liberación prematura de un feto debido a la EHRN ABO no esta indicada. Esto puede ser posible cuando hay embarazos subsecuentes con recién nacidos muertos, siendo la muerte atribuida a la EHRN ABO, en tal caso la determinación de la densidad óptica del líquido amniótico es indicada. (35).

9.5. ENFERMEDAD HEMOLITICA DEL RECIEN NACIDO POR OTROS ANTIGENOS FUERA DEL SISTEMA ABO Y EL SISTEMA Rh-Hr.

Otro tipo de anticuerpos que causan EHRN son todos aquellos que pueden ocurrir como IgG. La lista incluye: anti-K, anti-K_p^a, anti-k, anti-S, anti-s, anti-U, anti-M, anti-Fy^a, anti-Fy^b, anti-Jk^a, anti-Jk^b, anti-Di^a, anti-Di^b, anti-Yt^a, anti-Do^a, anti-Wr^a, y muchos otros. (47).

9.5.1. SISTEMA KELL.

Después de los anticuerpos Rh-Hr el anti-K es el anticuerpo más frecuentemente encontrado en las pruebas prenatales. (78). La aloinmunización por anti-K es de las formas más dañinas de isoinmunización fuera del sistema Rh-Hr y del sistema ABO que puede causar hidrops fetal o muerte intrauterina. (82).

La aloinmunización por anti-K como un resultado de embarazo es relativamente común pero, asumiendo que el antígeno K es 10 veces menos antigénico que el antígeno D, la incidencia de la EHRN por anti-K en segundos emba

razos es de 1 en 4 000 nacimientos, (47), ha causado muchas reacciones transfusionales hemolíticas severas, con hemoglobinuria, puede causar EHRN severa y es capaz de fijar complemento pero ocasionalmente puede observarse la hemólisis in vitro. (79), (81).

Se han reportado anticuerpos anti-K de tipo IgM que ocurre naturalmente estimulados por factores ambientales. (78).

Otro anticuerpo del sistema Kell es el anti-k que fue determinado en el suero de una mujer que dio a luz a un niño con EHRN leve. La rareza de este anticuerpo se presenta en 2 de 1 000 sujetos blancos k-negativos. También se encuentran otros anticuerpos como son: anti-Kp^a, anti-Kp^b, anti-Js^a, y anti-Js^b, que son todos raros. (47), (81). Se han reportado casos de EHRN por anti-Kp^b. (51).

El anticuerpo anti-Js^a puede causar EHRN leve, con la prueba de anti-globulina positiva y únicamente resulta de embarazos repetidos, fue descrito por Donovan y col. en una familia arabe. (39). Se encontro que los genes Js^a y Fy son más comunes en negros y arabes del medio oeste. (41). El anticuerpo Js^b puede causar EHRN leve, se encontro en un caso asociado con anti-A en una mujer africana causando EHRN severa. También el anti-K^u ha sido asociado a la EHRN leve. (78).

9.5.2. SISTEMA DUFFY, (Fy).

El anticuerpo anti-Fy^a es usualmente una IgG, fija complemento, causa EHRN que es generalmente leve que no requiere de tratamiento, (47), (78), (81), aunque en ocasiones se ha reportado hidrops fetal y muerte intrauterina, (82), y muerte neonatal. (78). Ha sido implicado como causa de reac-

ciones hemolíticas transfusionales, la madre ha sido inmunizada por transfusiones de sangre Fy(a+). (47), (81).

El anticuerpo anti-Fy^b es mucho más raro, causa también EHRN leve y reacciones transfusionales; ésto mismo es causado por el anticuerpo anti-Fy³. (47), (81).

9.5.3. SISTEMA KIDD. (Jk).

El primer ejemplo del anticuerpo anti-Jk^a fue descubierto en el suero de una mujer que dio a luz a un niño con EHRN, (47), (81), es capaz de ocasionar kernicterus, (47), hidrops fetal y muerte intrauterina, (82), ocasionalmente causa reacciones transfusionales con hemoglobinuria, una prueba de antiglobulina directa e indirecta fuertemente positiva, presenta un título de anti-Jk madre e hijo de 1:64, sus células fueron aglutinadas por anti-C₃d. (47).

El anticuerpo anti-Jk^b es más raro, es determinado usualmente en el suero que contiene otros anticuerpos. Los anticuerpos anti-Jk^a y anti-Jk^b son IgG pero pueden ser IgM. (47). El anti-Jk^a liga complemento y sus sitios antigénicos son de 11 300 por célula. (1).

Ambos anticuerpos pueden causar EHRN que puede ser severa, pero tiende a ser leve, dan una prueba de Coombs directa positiva y los niveles de bilirrubina son ligeramente elevados, los casos reportados raramente requirieron de exsanguinotransfusión. La razón de que estos anticuerpos generalmente no causen EHRN no es conocido; pero se puede postular que es debido a la clase de inmunoglobulina o a la dependencia del complemento. (81).

Crauford y col. demostraron la transmisión de un gen silencioso en el

estado Jk heterocigoto, cuando los individuos poseen los dos genes silenciosos Jk son capaces de producir un anticuerpo denominado anti-Jk³, por lo cual se reconoce un tercer antígeno, (36), descubierto en 1980 por Pierce, (25), que puede causar EHRN diagnosticándose por espectrofotometría del líquido amniótico, la presencia de este anticuerpo da la prueba de antiglobulina y un eluido positivo, aumento de las bilirrubinas en suero y la caída del hematocrito. (36).

9.5.4. SISTEMA LEWIS. (Le).

Los anticuerpos del sistema Lewis son determinados más comúnmente en mujeres en el período reproductivo, la razón de esto no es conocida pero puede ser relacionada a la debilitación de los antígenos Lewis durante el embarazo, no son conocidos como causantes de EHRN; ya que son predominantemente IgM y también porque las células rojas de los recién nacidos reaccionan muy débilmente con los anticuerpos Lewis, pero sí pueden causar reacciones transfusionales, (47), ya que, tienen la capacidad de ligar complemento. (81).

Su pobre reactividad in vitro hace que estos anticuerpos sean extremadamente dañinos desde el punto de vista de la rutina clínica aplicada a la transfusión sanguínea, ya que, se han reportado reacciones hemolíticas transfusionales. (81).

Mollison encontro un anticuerpo anti-Le^a tipo IgG en el suero de una mujer, y un anti-Le^b en un niño con EHRN leve. (67).

Se reporto un anticuerpo anti-Le^a IgG potente en el suero de cordón. Un niño de término tipo B Rh^o(D) positivo y su madre tipo O Rh^o(D) positi-

vo con anti-Le^a y anti-Le^b en su suero. Fue diagnosticada la EHRN ABO con prueba de Coombs positiva. Debido a la anemia progresiva fue indicada la transfusión con paquete globular O Rh^o(D) positivo siendo incompatible de 3+ con el suero de cordón y materno. Usando anti-IgG mono-específica, fue demostrado en el suero de la madre y en el suero de cordón un anticuerpo anti-Le^a tipo IgG, en una concentración de 1:40 en el suero materno en la fase antiglobulina. (67).

9.5.5. SISTEMA P.

Los anticuerpos del grupo sanguíneo P son aglutininas frías débiles inocuas, pero son alohemolisinas extremadamente potentes, capaces de producir hemólisis intravascular rápida. (81). Además se ha encontrado que son activas in vitro en un rango de temperatura de 30-37°C y presentan una prueba de antiglobulina directa positiva a 37°C. (47).

El anticuerpo anti-P₁+P+P^k (anti-Tj^a) ha sido determinado en todos los individuos del genotipo pp. Este anticuerpo parece estar asociado con los abortos habituales. Sin embargo, esto no es claro, (47), (81), ya que, muchas mujeres que tienen el anticuerpo han tenido niños vivos sin ningún aborto. (47).

Se reportaron dos casos en que aparece el anticuerpo anti-PP₁P^k ser la causa de EHRN. En el primer caso, el niño fue afectado muy levemente, con un título de antiglobulina directa del anticuerpo IgG de 1:16. En el segundo caso, fue afectado más severamente, pero la prueba de antiglobulina directa fue débilmente positiva. El eluido del niño tuvo anti-PP₁P^k y ambos anticuerpos IgG e IgM estuvieron presentes en el suero de la madre.

(47).

9.5.6. SISTEMA MNSs.

El anticuerpo anti-M generalmente reacciona a temperaturas menores de 37°C, pero puede ocurrir como un anticuerpo IgG, (78), se ha encontrado activo in vitro en un rango de temperatura de 30-37°C, (47), puede ser formado durante el embarazo o por transfusiones repetidas, la EHRN y las reacciones transfusionales no son comunes dada la naturaleza del anticuerpo que es una IgM, (77), (81), la prueba de antiglobulina directa es raramente positiva, la falta de reactividad puede estar en función del efecto de dosis o de pH. (81).

Se encontro en un embarazo gemelar que uno de los fetos era hidrópico, y el otro, era de fenotipo MN, presentando un cuadro de ictericia neonatal que obligo a la exsanguinotransfusión, demostrandose que la naturaleza del anticuerpo era IgG, (47), (77), y se ha demostrado la presencia del anticuerpo anti-M tanto en el suero de la madre como del niño. (77).

Las aglutininas anti-N casi exclusivamente ocurren en forma natural, son de tipo IgM, y tienen efecto de dosis, causan reacciones transfusionales, (81), y se ha reportado un caso de anti-N inmune tipo IgG por Callender y Race en 1946 que fue causa de EHRN leve. (47).

El anticuerpo anti-S usualmente ocurre como una aglutinina inmune en el suero de mujeres multíparas o pacientes multitransfundidos, (74)., es capaz de causar EHRN evidente y severa y ha sido implicado de muerte fetal, (47), (81), la prueba de antiglobulina directa es positiva y el anticuerpo es de tipo IgG y causa reacciones hemolíticas transfusionales. (81).

El anticuerpo anti-s es extremadamente raro, aparece como un anticuerpo inmune y puede causar EHRN, (47), (81), causa reacciones transfusionales y tiene efecto de dosis. (47).

Los anticuerpos anti-U son formados por personas que son S- s-, (81), son de la subclase IgG 1 y 3, (10), causan EHRN severa, (10), (14), (47), (81), y pueden causar reacciones hemolíticas transfusionales. (47), (81).

9.5.7 SISTEMA DIEGO. (Di).

El antígeno Di^a fue determinado en una familia Venezolana como causa de EHRN. (1), (47), (81). Estudios genéticos han demostrado que es independiente de todos los grupos sanguíneos de las células rojas. (1). La madre es sensibilizada por embarazos previos, (81), y el anticuerpo es determinado en el suero de la madre como una IgG de la subclase 1 y 3, puede encontrarse en títulos bajos pero causa EHRN severa requiriendo de exsanguinotransfusión, (1), causa una prueba de Coombs positiva, aunque pueden encontrarse niños con ictericia leve que requieran de tratamiento. (47). Se ha reportado el sexto caso de EHRN leve y el primer caso de EHRN severa que requirió de exsanguinotransfusión, y también se puede encontrar involucrado con otros anticuerpos como el anti-c, anti-D, anti-Fy^b, y anti-Jk^a. (74).

9.5.8 SISTEMA LUTHERAN. (Lu).

El primer ejemplo del anticuerpo anti-Lu^b fue determinado en una mujer (Lu^aLu^a), que no había tenido ninguna transfusión pero que había tenido tres embarazos previos, (47), siendo también encontrado por estímulos

transfusionales, es de tipo IgM, IgA, y ocasionalmente es IgG y la EHRN generalmente es leve. (12), (81).

Usando reactivos específicos anti-IgG y anti-IgA fue posible demostrar que el suero anti-Lu^b examinado era IgA; esta demostración explica la menor incidencia de la EHRN. (81).

Se encuentran otros antígenos capaces de causar EHRN leve entre los cuales encontramos el antígeno McCoy, (20), (47); el antígeno Vw, (47), (70); el antígeno Lan, (55); el antígeno Mi^a, (47), (70); el antígeno Wr^a, (47); y otros menos frecuentes.

Como se puede apreciar la demostración de la inmunoglobulina es de interés por varios motivos. El más inmediato, es la elección de la sangre para la exsanguinotransfusión, en segundo lugar, para el pronóstico de futuros embarazos; y en último lugar, para demostrar que el anticuerpo IgG activo a temperaturas de 37°C no siempre es una regla absoluta, como se ve en algunos casos publicados. (77).

Se enfatiza que en casos de EHRN se debe de buscar el anticuerpo causante con un panel de células conocidas. Los paneles empleados rutinariamente, contienen generalmente todos los antígenos involucrados, (70), pero en algunas circunstancias en las que el anticuerpo está dirigido contra un antígeno familiar (antígeno privado) se recomienda añadir o agregar las células rojas del padre cuando sea compatible con la madre en el sistema ABO.

9.5.9 ANTICUERPOS MATERNOS CONTRA ANTIGENOS DE ALTA INCIDENCIA.

Si una mujer que no ha tenido un estudio prenatal, y a la hora de liberar se le determina un anticuerpo contra un antígeno de alta frecuencia,

el banco de sangre del hospital puede no tener tiempo o recursos para identificar el anticuerpo o proveer la sangre compatible. Si la sangre de la madre es inapropiada o no se obtuvo se manda al banco central de sangre para investigar e identificar el anticuerpo y localizar la sangre compatible para el niño. Las unidades compatibles ABO y Rh^o(D) son transfundidas en esta situación de emergencia, la sangre incompatible puede no tener una supervivencia normal pero las células rojas sanguíneas absorben bastantes anticuerpos reduciendo así su título y dando tiempo a que se encuentre la sangre compatible. Hay más casos de EHRN debido a anticuerpos contra antígenos de alta frecuencia, que no requieren de transfusión. Su identificación prenatal puede ayudar a salir de la emergencia. (78).

9.5.10. ANTICUERPOS MATERNOS CONTRA ANTIGENOS DE BAJA INCIDENCIA.

Sabo recopiló una lista de anticuerpos contra los antígenos de baja incidencia que han sido implicados en la EHRN, su significancia clínica es muy variable, pudiendo dar la EHRN severa, leve, o subclínica. (78).

Estos anticuerpos son un problema especial para el banco de sangre, dan una prueba de antiglobulina positiva y pueden no ser detectados por el laboratorio si el niño es afectado leve o subclínicamente puede no ser diagnosticado, pero si el niño es afectado clínicamente el médico pide que se le realice la prueba de antiglobulina y el resultado serológico confirma la EHRN. (78).

La EHRN debido a un anticuerpo contra un antígeno de baja frecuencia es sospechada cuando: 1) los anticuerpos prenatales son negativos unas horas después de dar a luz, 2) la sangre de cordón tiene una prueba de anti-

globulina positiva, 3) el eluido de las células de cordón no reaccionan con las células del panel, 4) la EHRN ABO u otras causas de la prueba de antiglobulina positiva son excluidas. (78).

Las células rojas sanguíneas del padre deben de ser probadas con el eluido de las células rojas sanguíneas de cordón y con el suero de la madre, si son compatibles en el sistema ABO. Si la EHRN es debida a un anticuerpo contra un antígeno de baja frecuencia las células rojas sanguíneas del padre son positivas para el antígeno; esto si reacciona con el suero materno y con el eluido de las células rojas sanguíneas de cordón. (78).

La identificación de los anticuerpos contra los antígenos de baja frecuencia es muy difícil y se necesita de la colección de sueros y células raras de algunos laboratorios de referencia. La identificación de estos anticuerpos es de interés academico y no atrasa el tratamiento del niño afectado. La mayoría de las unidades de los donadores compatibles ABO carecen de estos antígenos de baja incidencia y son compatibles con el suero materno. (78).

En el cuadro número 15 se muestran los antígenos de baja y alta frecuencia. (78).

CUADRO N°. 15

SISTEMA DE GRUPO SANGUINEO	ANTICUERPO	SEVERIDAD USUAL DE LA EHRN
ANTIGENOS DE ALTA FRECUENCIA.		
Augustine	At ^a	Leve
Colton	Co ^a	Leve
Gerbich	Ge	Leve
Gregory/Holley	Gy ^a /Hy	Leve
Junior	Jr ^a	Leve
Langereis	Lan	Leve-moderada
Landsteiner/Weiner	LW	Moderada
ANTIGENOS DE BAJA FRECUENCIA.		
Biles	Bi	Leve
Batty	By	Leve
Froese	Fr ^a	Leve
Kamhuber	Far(Kam)	Severa
Livesey		Leve
Gambino	Ga	Leve
Good		Severa
Heibel		Severa
Ht ^a	Ht ^a	Leve
Radin	Rd	Leve
Reid	Re ^a	
Wright	Wr ^a	Severa
Zd	Zd	Severa

SISTEMAS DE GRUPO SANGUINEO QUE IMPLICAN LA EHRN

10. HIPERBILIPROBINEMIA Y KERNICTERUS.

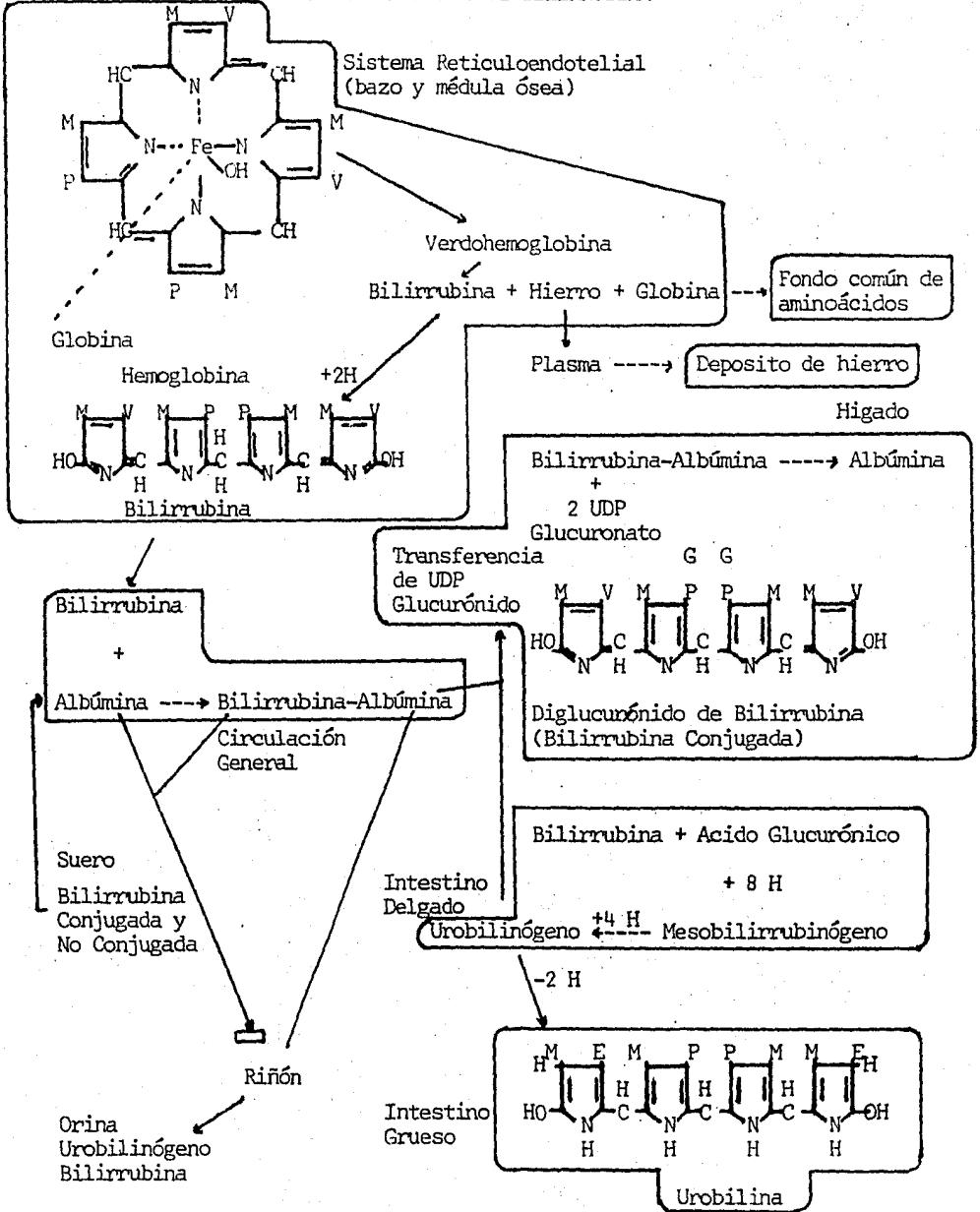
Los trastornos de la hiperbilirrubinemia se caracteriza por niveles elevados de bilirrubina serica, conjugados de bilirrubina y otros metabolitos constituidos por pigmentos biliares, cuando los niveles exceden a la capacidad de la albúmina para ligarlos, "escapan" hacia los tejidos en donde se acumulan; la presencia de éstos en la piel y las membranas mucosas, producen una coloración amarilla (si se deposita bilirrubina) o verde (si predomina la biliverdina). (2).

La porción hem de la hemoglobina es la fuente predominante de la bilirrubina, ya que suministra aproximadamente el 80% del pigmento total, y el otro 20% proviene de otras proteínas; (2), (22); se produce en las células reticuloendoteliales del hígado, bazo, y médula ósea principalmente, absorven glóbulos rojos envejecidos, producen su lisis liberando hemoglobina, la cual se cataboliza para formar el pigmento. (2), (72). Figura número 10.

La bilirrubina tiene la característica de ser soluble en lípidos y solventes orgánicos dándole la propiedad de atravesar las membranas celulares, en donde interfiere con muchas funciones metabolicas cruciales. (2). In vitro es muy tóxica para los componentes celulares tales como las mitocondrias. La bilirrubina libre no ligada es la fracción tóxica del pool total, mientras que la ligada no puede entrar a las células por lo cual es inocua. (40).

La citotóxicidad tiene un significado particular en el recién nacido, ya que el hígado aún no se encuentra maduro, (2), Billing y cols. calcularon que probablemente puede excretarla a una velocidad equivalente al 1-2% que el hígado normal adulto, (47), se requiere de unos 10-15 días para que

FIGURA Nº. 10
METABOLISMO NORMAL DE BILIRRUBINA



alcance su potencial bioquímico completo siendo incapaz de metabolizar la bilirrubina libre, por lo cual los niveles neonatales pueden sobrepasar la capacidad enlazante de las proteínas plasmáticas y producir efectos citotóxicos; (2); en el cuadro número 16 se observan los diferentes niveles de bilirrubina. Cualquier incremento en la destrucción de las células rojas puede ser calculado en los niños de término cuando el aumento de la concentración de bilirrubina excede de 5 mg/dl en 24 h es presuntivo de hemólisis, aunque la ausencia de ictericia no excluye el diagnóstico; esto es porque la habilidad para excretar bilirrubina en los diferentes niños es independiente del proceso hemolítico. (47). Figura número 11.

La bilirrubina total se usa para predecir el kernicterus, aunque sería mejor determinar la bilirrubina libre para predecirlo, ya que es la única que puede entrar directamente a las células del cerebro cruzando por difusión la membrana celular, sus niveles pueden cambiar rápidamente con los cambios en la concentración de drogas y ácidos grasos libres y otros factores. (34).

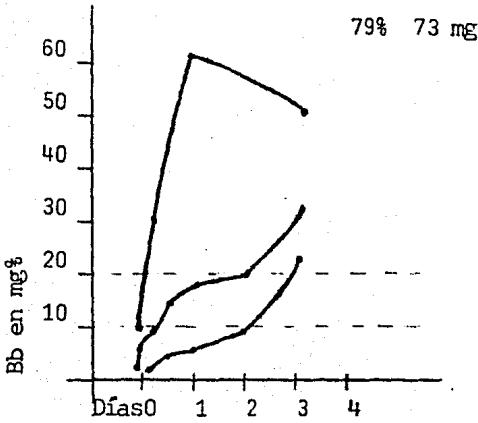
El mecanismo bioquímico fundamental del kernicterus ha sido intensamente investigado, pero no hay ninguna explicación aceptada para la acción molecular selectiva de la bilirrubina en el metabolismo del cerebro. (34). Cualquier observación sugiere que la principal acción es inhibir la respiración y desconectar la fosforilación oxidativa en la mitocondria, así como también afecta enzimas específicas en la cadena de transporte de electrones. (2), (34), (47).

Con estudios de micrografía electrónica se observa la presencia de grandes vacuolas de contenido glucogénico en las mitocondrias neuronales

CUADRO Nº. 16

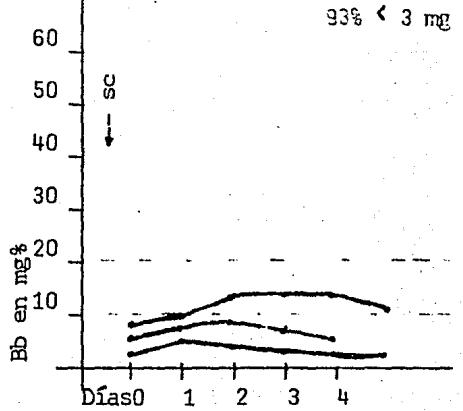
CONCENTRACIONES DE BILIRRUBINA EN LA SANGRE EN LOS PRIMEROS DÍAS DE LA VIDA. (HSIA Y COLS.)

ERITROBLASTOSIS FETAL



NIÑOS A TERMINO

Peso más de 2.5 Kg



NIÑOS PREMATUROS

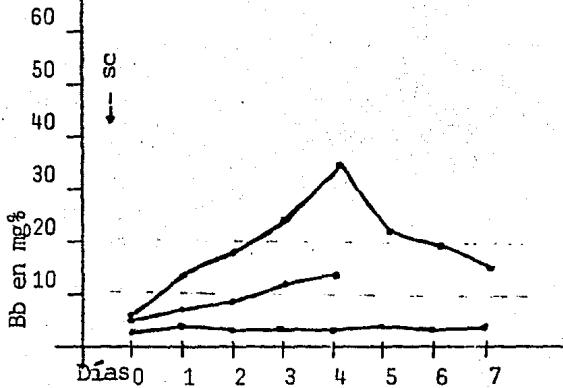
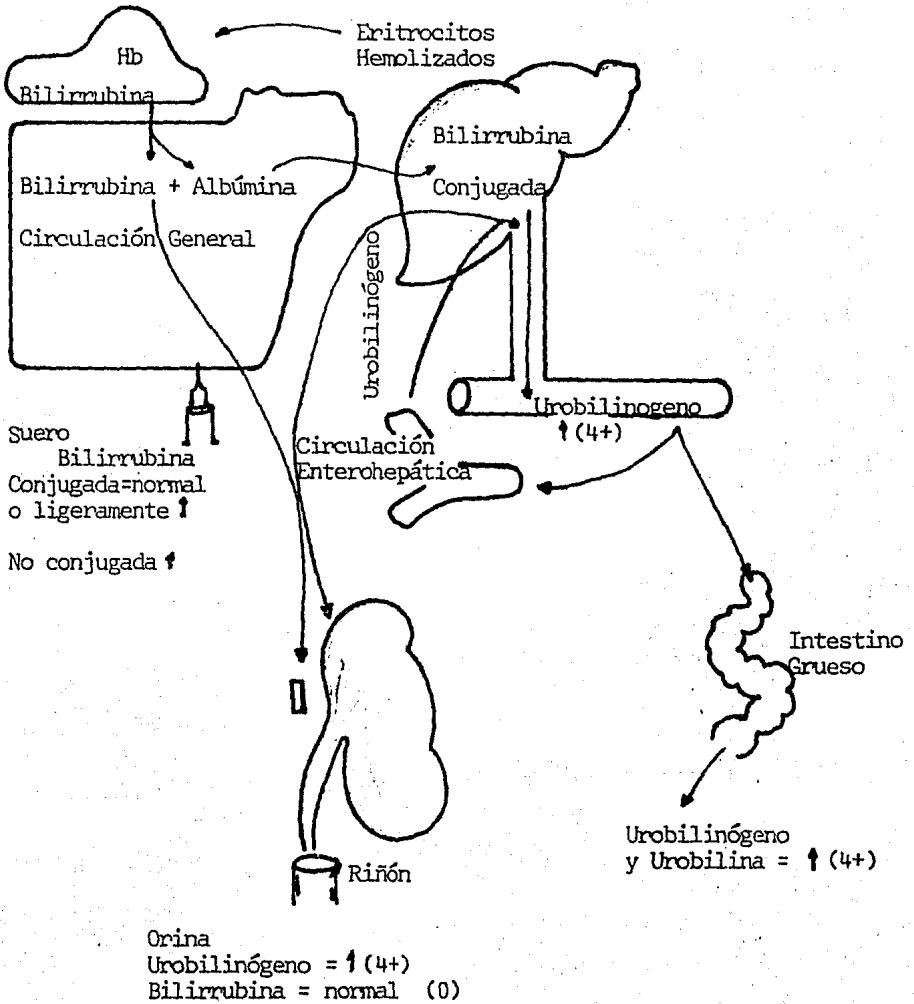


FIGURA Nº. 11



METABOLISMO Y ELIMINACION DE BILIRRUBINA EN ICTERICIA HEMOLITICA.

internas. Esto ha ayudado a postular que hay un desorden en el mecanismo bioquímico fundamental, estructural, y funcional en el kernicterus, ya que inhibe la cadena de transporte de electrón, malato deshidrogenasa, NAD^+ isocitrato deshidrogenasa ocasionando una decreción en el catabolismo de la glucosa y un aumento en la degradación de glucogeno en el cerebro hiperbilirrubinémico. (34).

Hay 4 explicaciones propuestas para la toxicidad selectiva de la bilirrubina para el cerebro neonatal. (34).

1.- La barrera hematoencefalica del recién nacido es inmadura, y la bilirrubina puede atravesar rápidamente. Es bloqueada la fosforilación en las mitocondrias con una concentración de $8 \mu\text{M}$; sin embargo, se ha demostrado que las mitocondrias del hígado no se afectan en presencia de bilirrubina.

La madurez de la barrera hematoencefalica es una explicación limitada para la toxicidad selectiva, debido a que deja pasar albúmina y se ha demostrado que ésta protege a las células y a las mitocondrias de los efectos nocivos de la bilirrubina. (34).

2.- La acción selectiva de la bilirrubina en el metabolismo del cerebro tiene diferencias cualitativas y cuantitativas en la composición de lípidos comparado con otros órganos neonatales y adultos. La bilirrubina se liga reversiblemente con los fosfolípidos de la mitocondria, células, y fragmentos de células y produce un cambio sanguíneo en la absorción de bilirrubina. En adición, la bilirrubina interactúa específicamente con los gangliosidos del cerebro neonatal y tiene una alta asociación con la esfingomielina; este factor puede jugar un papel muy importante en la encefalo-

patía por bilirrubina. (34).

3.- La toxicidad de la bilirrubina puede estar relacionada con la concentración de la ligandin, ya que no esta presente en el tejido cerebral. (34).

4.- La bilirrubina inhibe un número de deshidrogenasas dependientes de NAD, esto es, isocitrato, malato, alcohol, glutamato, gliceraldehido-3-fosfato y deshidrogenasa NADH. Ha sido propuesto que puede inhibir la glutamato y alcohol deshidrogenasa por: a) quelación con zinc, b) desnaturando las enzimas actuando como detergente, c) compitiendo con el anillo piridínico del NAD^+ en sitios ligados con la enzima. Ogasawara y col. han sugerido que la inhibición del NAD^+ y la isocitrato deshidrogenasa junto con su alta concentración en el tejido cerebral y su menor actividad en la mitocondria puede explicar la acción selectiva de la bilirrubina por el cerebro. (34).

Hay otra hipótesis para la entrada de la bilirrubina al cerebro, y es durante la abertura reversible de la barrera hematoencefálica por soluciones hiperosmolares teniendo libre acceso al cerebro por su solubilidad en los lípidos. (40).

Se asume que el daño de la barrera hematoencefálica es un mecanismo primario, abriéndose la barrera la bilirrubina y muchos otros componentes logran el acceso hacia las áreas del cerebro. (40).

Gerrard escribió en 1952 "La pigmentación del cerebro es secundaria a las células nerviosas teniendo un daño primario por un factor o factores no conocidos". Valaes y Gellis enfatizaron que el kernicterus puede no siempre ser "la definitiva evidencia de la toxicidad de la bilirrubina",

se piensa que en la mayoría de los casos "la pigmentación del cerebro es secundaria a las células nerviosas siendo primero el daño por un factor o factores desconocidos". (76).

Se ha demostrado que el cerebro contiene lípidos que toman la bilirrubina no conjugada pero no la conjugada. En el kernicterus el material pigmentado en el cerebro es bilirrubina no conjugada. (47).

La hiperbilirrubinemia puede conducir al kernicterus sin otras causas, las formas leves de daño neurológico y del desarrollo no son conocidas. En el presente no hay ninguna base para tratar la ictericia con la confianza de prevenir semejante daño. (40).

En una proporción de niños afectados no tratados con exsanguinotransfusión la ictericia se hizo más profunda y la concentración de bilirrubina en suero se eleva hasta 20-40 mg/dl, ocasionalmente a las 36 h pero más frecuentemente a las 48 y 96 h de nacido. Los niños intensamente ictericos tienen signos de daño al sistema nervioso central y raramente se muestran antes de las 36 h de edad, después el niño se hace cada vez más letárgico y renuente para su alimentación y puede manifestar opistotonos. Esto puede ser notado por sus ojos rodantes y pueden presentar un chillido agudo, sus brazos pueden estar extendidos y las muñecas en pronación completa. En esta etapa el 70% de los casos la respiración es irregular, hay fluido espumoso sanguinolento por la nariz y el niño está frío y fallece dentro de las 12 h. En el 30% restante estas manifestaciones respiratorias no ocurren y el niño sobrevive por meses o años. (47).

Los niños de término que sobreviven al kernicterus usualmente sufren secuelas neurológicas como atetosis, sordera, parálisis de la mirada hacia

arriba y displacia dental; pero puede ser clínicamente silencioso para pre^umaturos y el diagnóstico solamente se hace con la autopsia. Algunos pediatras rutinariamente practican la exsanguinotransfusión cuando la bilirrubina excede del 1% del peso de los niños. Así, en un niño de 800 g es exsanguinando cuando la bilirrubina en suero alcanza los 8 mg/dl. Se ha determinado que el riesgo de kernicterus es menor cuando la exsanguinotransfusión se hace a los niveles de 20 mg/dl, pero cuando son expuestos a agentes potenciales como el sulfisoxasole se incrementa el riesgo de kernicterus. (40).

Es comúnmente aceptado el criterio de exsanguinotransfusión para más de 20 mg/dl de bilirrubina pero no es valido para todos los neonatos. (34).

El kernicterus es solamente un síndrome y se puede prevenir con el tratamiento de la hiperbilirrubinemia, y que esta relacionada con la disminución de la inteligencia (IQ), dislexia y otras alteraciones en el aprendizaje, hiperactividad y pobre coordinación. (40). Los niños con niveles de bilirrubina más altos probablemente tuvieron más problemas que los que tuvieron menos concentración, (angustia respiratoria, hipoglicemia, hipotermia, hemorragia intracraneana e hiperviscosidad). (35).

Para prematuros muy pequeños, la concentración de bilirrubina total ocasiona cualquier alteración en su organismo, no hay ninguna base científica para guiar al clínico a decidir cual es el tratamiento inicial, además contienen menos concentración de albúmina que los niños de término, y ésta previene la toxicidad mientras su concentración molar exceda de la concentración de bilirrubina. Otros factores que intervinieron en el empeoramiento son los esfuerzos metabólicos y las drogas que pueden competir con la albúmina para ligar la bilirrubina. (40).

Los niños ictericos sin kernicterus no parecen ser diferentes a los niños ictericos con kernicterus, independientemente de que sean de término o prematuros. Hay un mayor riesgo de kernicterus cuando se incrementan los niveles de bilirrubina no conjugada a 18-20 mg/dl. (76).

En años recientes el kernicterus ha sido principalmente determinado en niños extremadamente enfermos y/o inmaduros, su vida es prolongada por técnicas modernas, pero la muerte es seguida cuando hay períodos prolongados de hipoxia, acidosis, infecciones, falta de las funciones vitales y la resucitación repetida. En el trabajo de Turkel y col. se observo que el kernicterus siempre fue la manifestación final de la toxicidad de la bilirrubina. (76).

Otros factores que se alteran en la EHRN son: la cantidad de plaquetas, disminución de la coagulación, la reducción del factor del complejo protrombinico, la hipofibrinogenia, la reducción del factor V y del factor VIII en la EHRN por anti-D severa. (31). A diferencia de la EHRN ABO hay un aumento del fibrinógeno que puede favorecer la aglutinación in vivo de las células sensibilizadas por IgG anti-A e incrementa la destrucción de estas células. (62). También Kaplan y col. reportaron valores disminuidos de la actividad de la acetilcolinesterasa en la EHRN ABO. (29).

11. TRATAMIENTO DE LAS HIPERBILIRRUBINEMIAS.

Se encuentran dos procedimientos terapéuticos más importantes que se aplican en pacientes con hiperbilirrubinemia que son la exsanguinotransfusión y la fototerapia. (33).

11.1. EXSANGUINOTRANSFUSION.

La exsanguinotransfusión constituye siempre un procedimiento de urgencia, se debe confirmar que el grupo y Rh^o(D) de la sangre del donador sea compatible con el grupo y Rh^o(D) de la sangre del niño, fecha de extracción y cantidad suficiente. En tanto no se inicie la exsanguinotransfusión se aplicará fototerapia, la cual se continuará después de realizado el procedimiento. (33).

La sangre del donador debe ser reciente (menos de 72 h), y se seleccionará conforme el cuadro número 17. (33).

Si la hiperbilirrubinemia es por causa de anticuerpos antieritrocitarios es importante que éstos sean identificados tan pronto como sea posible, así como determinar la relación de los anticuerpos en la EHRN, e iniciar la búsqueda de sangre compatible. Si los anticuerpos son detectados e identificados con anterioridad y si la madre se encuentra con buena salud, se pueden obtener sangres autólogas. Un total de 2 ó 3 unidades pueden ser obtenidas (2 a 3 meses de intervalo) y congelarlas. Esto tiene varias ventajas; si la mujer requiere de transfusión durante o después de dar a luz, es más seguro transfundir su propia sangre. Excluyendo cualquier incompatibilidad ABO, sus células rojas sanguíneas lavadas libres de plasma, es la más segura para el niño si requiere de transfusión. También el plasma pue-

CUADRO N°. 17

SELECCION DEL TIPO DE SANGRE DEL DONADOR

MADRE		HIJO		DONADOR	
TIPO	Rh°(D)	TIPO	Rh°(D)	TIPO	Rh°(D)
O	-	O	+	O	-
A	-	A	+	A u O*	-
B	-	B	+	B u O*	-
AB	-	AB	+	AB u O*	-
O	-	A, B	+	O*	+
O	+	A, B	+	O*	+

*Paquete de sangre O obtenido a más de 3 000 rpm reconstituido con plasma fresco del mismo grupo sanguíneo del niño. (33),

de ser usado por el banco de sangre para seleccionar sus donadores. (78).

En los casos de incompatibilidad ABO se utilizará sangre O Rh^o(D) positivo sin hemolisinas, la cual, en caso de no encontrarse disponible, debe de prepararse mediante reconstitución de paquete globular O Rh^o(D) positivo con plasma AB, A o B, según el tipo del paciente. (33).

11.2. FOTOTERAPIA.

Los objetivos de esta modalidad terapéutica son prevenir la hiperbilirrubinemia en los primeros días de vida en niños de pretérmino, con insuficiencia respiratoria o sin ella; evitar o controlar la hiperbilirrubinemia en niños con problemas de aloinmunización de moderada gravedad; y evitar el "rebote" que aparece después de la exsanguinotransfusión. (33).

12. MATERIAL Y METODO.

12.1. PACIENTES.

Criterios de inclusión para el estudio.

Recién nacidos con hiperbilirrubinemia [bilirrubina en sangre de cordón umbilical más de 4 mg/dl; a las 12 h más de 6 mg/dl; a las 24 h más de 10 mg/dl; en las primeras 48 h más de 13 mg/dl y a cualquier edad más de 15 mg/dl. (33)], que se estudiaron en los últimos 5 años (1979-1984), y que contaban con los estudios suficientes para ser incluidos en cualquiera de los grupos que a continuación se mencionan:

De acuerdo a los datos que se obtuvieron de los pacientes, estos se dividieron en dos grupos: Un grupo con probable EHRN ocasionada por aloanticuerpos antieritrocitarios y el otro sin este padecimiento.

12.2. CRITERIOS DE DIAGNOSTICO.

12.2.1. Se considero que los pacientes que no tenían EHRN por aloanticuerpos antieritrocitarios, cuando cumplieran los siguientes requisitos:

Grupo ABO y Rh^o(D) del niño compatible con el grupo ABO y Rh^o(D) de la madre.

Coombs directo negativo y/o anticuerpos irregulares negativos en el suero de la madre y en el suero y/o eluido del recién nacido.

12.2.2. Los pacientes con EHRN ocasionada por un aloanticuerpo fueron separados en seis grupos:

12.2.2.1. EHRN por el sistema ABO.

Todos los pacientes tenían que ser incompatibles en el sistema ABO con la madre, y cumplir además con cualquiera de los siguientes criterios:

Coombs directo positivo.

Presencia de anticuerpos anti-A o anti-B en el suero y/o eluido de las células rojas del recién nacido.

Presencia de hemolisinas anti-A o anti-B en un título mayor de 1:8.

Presencia de aglutininas anti-A o anti-B en un título mayor de 1:128.

Y/o la presencia de anti-A o anti-B inmunes IgG en el suero de la madre.

12.2.2.2. EHRN por anti-D [Rh^o(D)].

Pacientes con el factor Rh^o(D) positivo y la madre Rh^o(D) negativa, y cumplir con alguno de los siguientes parámetros.

Coombs directo positivo.

Presencia de anticuerpos anti-D en el suero de la madre.

Presencia de anticuerpos anti-D en el suero y/o eluido de los hemáties del recién nacido.

12.2.2.3. EHRN por otros anticuerpos fuera del sistema ABO y Rh^o(D).

Coombs directo positivo.

Presencia de un anticuerpo en la madre, y/o la demostración de un anticuerpo en el suero y/o eluido de los eritrocitos del recién nacido.

12.2.2.4. EHRN por más de un anticuerpo.

Coombs directo positivo.

Demostración en el suero y/o eluido del niño la presencia de más de un anticuerpo.

Demostración de más de un anticuerpo en el suero de la madre.

12.2.2.5. AMF por otros anticuerpos fuera del sistema ABO y sistema Rh-Hr.

Pacientes en los cuales se les demostró un anticuerpo en el suero de la madre.

12.2.2.6. AMF por anticuerpos de especificidad no determinada.

Anticuerpos sin especificidad demostrada en el suero de la madre.

Se seleccionaron aquellos pacientes que contaban con un expediente clínico completo, conteniendo los siguientes datos:

- Edad de ingreso al hospital.
- Peso al nacer.
- Niveles de bilirrubina en suero antes y después de la exsanguinotransfusión.
- Hematocrito antes de la exsanguinotransfusión.
- Tratamiento con exsanguinotransfusión.
- Diagnóstico de probable kernicterus al darse de alta.
- Otros diagnósticos clínicos diferentes y agregados a la hiperbilirrubinemia y a la EHRN por aloanticuerpos antieritrocitarios.

12.3. TECNICAS QUE SE EMPLEAN EN EL ESTUDIO DE LA EHRN.

12.3.1. GRUPO SANGUINEO ABO Y FACTOR Rh^o(D).

FUNDAMENTO.

La prueba se basa en la reacción inmunológica específica antígeno-anticuerpo.

MUESTRA BIOLÓGICA: Sangre sin anticoagulante.

12.3.1.1. PRUEBA DIRECTA PARA DETERMINAR GRUPO ABO.

Se marcan 3 tubos de 10 x 75 como anti-A, anti-AB, anti-B, se coloca una gota del antisuero respectivo; y una gota de suspensión de eritrocitos problema al 2% en su mismo suero.

En un tubo marcado autotestigo, además de los eritrocitos problema se añade una gota del suero problema libre de eritrocitos.

12.3.1.2. PRUEBA INVERSA PARA DETERMINAR GRUPO ABO.

En los tubos marcados como A₁, A₂, B, 0, se pone una gota de los eritrocitos correspondientes en suspensión salina al 2% y dos gotas del suero problema libre de eritrocitos.

Centrifugar 30 seg a 3 400 rpm los 8 tubos y leer aglutinación macroscópica y/o microscópica en caso de problema. En los tubos correspondientes a la prueba inversa debe observarse si existe hemólisis. En el cuadro número 18 se observa la aglutinación que presentan los grupos sanguíneos ABO en la prueba directa e inversa.

CUADRO N°. 18

AGLUTINACION DE LOS GRUPOS SANGUINEOS ABO

GRUPO DIRECTO		ANTI-AB	AUTOTESTIGO	GRUPO INVERSO		CRB	CRO	GRUPO
ANTI-A	ANTI-B			CRA ₁	CRA ₂			
+	+	+	-	-	-	-	-	O
+	-	+	-	-	-	+	-	A
-	+	+	-	+	+	-	-	B
-	-	-	-	+	+	+	-	AB

12.3.1.3. FACTOR Rh^o(D) ALBUMINOSO.

Se marca un tubo con Ph y se coloca una gota del antisuero, y al tubo marcado como testigo se le coloca una gota del control Rh-Hr. En ambos tubos se les coloca una gota de eritrocitos problema en suspensión al 2% en su propio suero.

Centrifugar 90 seg a 3 400 rpm y leer aglutinación macroscópica.

12.3.1.4. FACTOR Rh^o(D) SALINO.

Lavar una gota de eritrocitos problema una vez en tubo de 13 x 100 mm con solución salina a 37°C. Resuspender al 2%.

Rotule dos tubos de 10 x 75 mm como Ds y Ts. Al tubo marcado como Ds añadir una gota de anti-Rh^o(D) salino y al marcado como Ts una gota de solución salina isotónica. A cada tubo agregar una gota de los eritrocitos problema lavados.

Mezclar, incubar 30 min a 37°C.

Centrifugar 30 seg a 3 400 rpm, observar aglutinación macroscópica.

Deben emplearse los antisueros comerciales según las indicaciones del fabricante.

12.3.2. GRUPO SANGUINEO ABH EN SALIVA.

FUNDAMENTO.

Los antígenos de grupo del sistema ABH se desarrollan antes del nacimiento y se encuentran no solamente en células rojas, leucocitos y plaquetas, sino también en otros tejidos del cuerpo con excepción del cerebro y médula espinal, y aparecen como sustancias hidrosolubles en los líquidos

corporales.

Aquellos individuos que genéticamente están determinados para secretar estas sustancias de grupo en los líquidos corporales, se llaman "secretores" y son aproximadamente el 80% de la población general.

Los antígenos hidrosolubles se pueden detectar en la saliva, orina, jugo gástrico, bilis, lagrimas, etc. de los llamados "secretores".

PRACTICA.

Recolectar la muestra en un tubo de 18 x 150 mm de 4 a 5 ml de saliva y se lleva a un baño maría hirviendo durante 10 min, se centrifuga por 10 min a 4 000 rpm.

Se extrae con pipeta pateur la saliva libre de restos protéicos.

Se guarda a 4°C si su uso es inmediato o se almacena a menos de 20°C si el estudio se efectua después.

BUSQUEDA DE LA CANTIDAD OPTIMA DE ANTICUERPOS.

Se hacen diluciones progresivas de cada uno de los anticuerpos empleados en la técnica (anti-A, anti-H).

Se añaden glóbulos rojos específicos suspendidos en solución salina al 2% a cada una de las series (A, B, O), respectivamente.

Se centrifuga por 30 seg a 3 400 rpm.

Elegir la dilución óptima de cada uno de los anticuerpos, ésta será, la dilución más alta que produzca (3+) de aglutinación de las células.

REACCION ANTIGENO-ANTICUERFO.

Hacer diluciones progresivas en solución salina de la saliva problema previamente desproteinizada (diluciones madre) a partir de 1/4 - 1/768 (15 tubos).

Disponer 3 series de 15 tubos cada una.

Serie 1 que corresponda a anti-A.

Serie 2 que corresponda a anti-B.

Serie 3 que corresponda a anti-H.

Distribuir en estas 3 series las diluciones progresivas de la solución madre de saliva.

A cada uno de los tubos de cada serie, se le agrega un volumen de la dilución óptima de el anticuerpo previamente titulado. Se mezcla el contenido de los tubos y se incuba 30 min a 22 - 25°C.

DEMOSTRACION DE LA INHIBICION DEL ANTICUERPO.

A cada uno de los tubos de cada serie, añadir glóbulos rojos específicos suspendidos al 2% en solución salina.

Ejemplo: anti-A ----- glóbulos rojos A₁
anti-B ----- glóbulos rojos B
anti-H ----- glóbulos rojos O

Se mezclan, se centrifugan por 30 seg a 3 400 rpm y se observa macroscópicamente la reacción de aglutinación.

INTERPRETACION.

El secretor de ABH en saliva dará normalmente completamente inhibición de la aglutinación en los primeros tubos de la serie.

Ejemplo. - - - - 2+ 3+ 3+ 3+ G. R. A + ANTI-A
 3+ 3+ 3+ 3+ 3+ 3+ 3+ 3+ G. R. B + ANTI-B
 - - - 2+ 3+ 3+ 3+ 3+ G. R. O + ANTI-H

Secretor de sustancia A y H = grupo A.

12.3.3. INVESTIGACION DE HEMOLISINAS Y AGLUTININAS.

FUNDAMENTO.

Se practican diluciones del suero para investigar los títulos de los anticuerpos aglutinantes del sistema ABO; anti-A, anti-AB, y anti-B.

Se investigan las propiedades hemolíticas de los anticuerpos del sistema ABO, colocando el suero problema y las células blanco (eritrocitos de grupo ABO conocido) en un sistema óptimo para la función del complemento.

MUESTRA BIOLÓGICA: Suero problema fresco (madre).

Suero AB fresco liofilizado.

12.3.3.1. INVESTIGACION DE AGLUTININAS.

Es requisito previo para esta determinación, conocer el grupo sanguíneo ABO del paciente (madre).

1.- Practique diluciones dobles progresivas del suero problema en solución salina isotónica (15 tubos, el primero es sin diluir).

2.- Monte dos series de tubos de 10 x 75 mm; adicione a cada uno de los tubos correspondientes, 2 gotas de cada dilución del suero (comience a partir de la dilución más pequeña).

3.- Adicione a cada tubo de la primera serie una gota de suspensión al 2% de eritrocitos de grupo conocido A₁.

4.- Adicione a cada tubo de la segunda serie, una gota de suspensión al 2% de eritrocitos de grupo conocido B.

5.- Mezcle perfectamente el contenido de los tubos de ambas series.

6.- Centrifugue los tubos a 3 400 rpm por 30 seg.

7.- Ordene los tubos en una gradilla para efectuar las lecturas.

8.- Resuspenda los botones celulares por agitación moderada; observe continuamente contra una fuente de luz blanca.

9.- Reporte los grados de aglutinación macroscópica para cada una de las diluciones; comience a leer a partir de la dilución más alta.

10.- Incube a 37°C por 60 min.

11.- Centrifugue nuevamente y proceda a leer; reporte estas lecturas, señalando que se hicieron después de incubar a 37°C por 60 min.

MEDIDAS DE SEGURIDAD Y CONTROL.

Emplee material de vidriería escrupulosamente limpio y seco.

Emplee eritrocitos A₁ y B a los que les haya practicado control de calidad previo.

Monte únicamente las series de diluciones necesarias (para la investigación de aglutininas en pacientes de grupo A o B, se emplea una sola serie a la cual se le adiciona eritrocitos B o A, respectivamente. Para pacientes de grupo O, monte ambas series).

Recuerde que la lectura de las reacciones de aglutinación se debe hacer comenzando por la dilución más alta; esto se hace con el objeto de controlar el procedimiento de agitación para resuspender los botones celulares, con lo que los resultados son más confiables.

12.3.3.2. INVESTIGACION DE HEMOLISINAS.

1.- Monte 3 series de tubos de 10 x 75 mm (10 tubos cada una).

2.- Aproveche las diluciones dobles progresivas del suero problema en solución salina isotónica que se hace para la determinación de aglutininas

3.- Adicione al tubo correspondiente de cada una de las 3 series, una

gota de la dilución respectiva.

4.- Lave con solución salina isotónica una vez; los eritrocitos obtenidos recientemente (el mismo día que se hace la determinación), de grupo A₁, B, y O, así como eritrocitos del paciente. Resuspéndalos al 5% con solución salina isotónica.

5.- Adicione a los tubos de las 2 series, una gota de suspensión de eritrocitos preparada anteriormente: a la primera serie, de grupo A₁, a la segunda B, y a la tercera eritrocitos del paciente.

Adicione una gota de una fuente de complemento como el suero AB fresco o liofilizado.

6.- Mezcle perfectamente el contenido de los tubos.

7.- Incube a 37°C por 2 hs; cuando haya transcurrido una hora mezcle el contenido de los tubos con agitación moderada.

8.- Observe (hemólisis) el aspecto del suero sobrenadante de los tubos que contienen los eritrocitos A y B más el suero del paciente.

REPORTE.

Hemólisis parcial 1 = Los tubos con las células A o B muestran un grado ligero de hemólisis, comparándolos con el autotestigo.

Hemólisis parcial 2 = Hemólisis importante.

Hemólisis total = No se observan eritrocitos suspendidos en el suero sobrenadante. Totalmente hemolizado.

Negativo = Sin hemólisis.

Reporte el título de hemólisis. La dilución mayor que aún muestra hemólisis parcial 1.

12.3.4. DETERMINACION DE ANTICUERPOS IgG CONTRA EL SISTEMA ABO.

Anti-A inmune y anti-B inmune.

FUNDAMENTO.

La prueba se basa en la neutralización de los anticuerpos del sistema ABO de naturaleza IgM, con el objeto de dejar libres y activos en el suero los de naturaleza IgG (cuando están presentes). Estos anticuerpos son los responsables de los casos de AMF por incompatibilidad ABO.

La neutralización de los anticuerpos IgM se consigue por medio de dos tipos de tratamiento.

- Con saliva de individuos secretores de sustancias de grupo sanguíneo A o B.
- Con 2-Mercapto Etanol.

12.3.4.1. DETERMINACION DE ANTI-A O ANTI-B INMUNES. NEUTRALIZACION CON SALIVA.

FUNDAMENTO.

Los anticuerpos anti-A o anti-B, se neutralizan con sustancias solubles de grupo sanguíneo A o B, cuando pertenecen a la clase IgM. Cuando la naturaleza de estos anticuerpos es IgG (o "inmunes"), es posible demostrar su presencia en el suero de pacientes en los que se sospecha la presencia de un fenómeno de AMF por incompatibilidad al sistema ABO.

MUESTRA BIOLÓGICA: Suero problema.

Saliva de secretores de sustancia A o B.*

METODO.

- 1.- Rotulé tres tubos de 10 x 75 mm 1 2 3

- 2.- Adicione a cada tubo 0.5 ml de suero problema.
- 3.- Adicione: Tubo 1 = 0.5 ml de saliva con sustancia A (o B).
 Tubo 2 = 1.0 ml de saliva con sustancia A (o B).
 Tubo 3 = 1.5 ml de saliva con sustancia A (o B).
- 4.- Mezcle perfectamente el contenido de los 3 tubos.
- 5.- Incube a temperatura ambiente por 60 min.
- 6.- Tome 4, 6, y 8 gotas de los tubos 1, 2, y 3 respectivamente, y cólquelas en tubos de 10 x 75 mm.
- 7.- Adicione a cada tubo una gota de suspensión al 2% de eritrocitos de grupo A o B según sea el caso.
- 8.- Mezcle perfectamente el contenido de los tubos.
- 9.- Centrifugue a 3 400 rpm por 30 seg.
- 10.- Resuspenda los botones celulares con agitación moderada; observe continuamente contra una fuente de luz blanca.
- 11.- Tome como punto de neutralización, el primero de los 3 tubos que muestre un resultado de aglutinación negativa con glóbulos rojos A o B, según sea el caso.

*Consulte grupo sanguíneo ABH en saliva.

12.- Solamente se considera un resultado de aglutinación como negativo cuando se observa al microscopio la suspensión de eritrocitos considerada en la lectura macroscópica como negativa: decante una gota del tubo que contiene el botón celular resuspendido, sobre un portaobjetos. Observe al microscopio con objetivo seco débil. Si no observa aglutinación microscópica, escoja ese tubo como punto de neutralización; si sucede lo contrario, es decir que se observan pequeños aglutinados microscópicos, elija el si-

guiente tubo, que contiene una dilución mayor del suero con la saliva, y verifique también para éste la negatividad de la aglutinación tanto macro como microscópicamente.

13.- Separe el contenido del tubo que mostró neutralización en 2 porciones, colóquelas en 2 tubos de 10 x 75 mm y practique a cada una diluciones dobles progresivas con solución salina isotónica (10 tubos de 10 x 75 mm cada serie). El primer tubo de cada serie de diluciones, contiene el suero duluido originalmente con la saliva durante el proceso de la neutralización (1:2, 1:3 ó 1:4, según el punto de neutralización).

14.- Adicione a cada tubo de las 2 series una gota de suspensión al 2% en solución salina isotónica de eritrocitos A₁ o B, según corresponda. Mezcle perfectamente.

15.- Incube a 37°C por 60 min.

16.- Lave 3 veces con solución salina los eritrocitos de ambos sueros; centrifugue a 3 400 rpm 90 seg para cada lavada; al finalizar la última, decante completamente la solución salina y seque el remanente sobre gasa limpia y seca.

17.- Adicione a cada uno de los tubos de la primera serie, una gota de suero de antiglobulina humana (AGH), y a los de la segunda serie una gota de suero AB. Mezcle hasta resuspender totalmente los botones celulares.

18.- Centrifugue a 3 400 rpm:

- 30 seg los tubos con suero AGH.
- 90 seg los tubos con suero AB.

19.- Comenzando por la dilución mayor (el último tubo de cada serie) resuspenda los eritrocitos con agitación moderada; observe continuamente

contra una fuente de luz blanca.

20.- Reporte cualquier grado de aglutinación macroscópica o microscópica, o bien si el resultado es negativo (los eritrocitos se resuspenden totalmente en el suero AGH o en el suero AB).

INTERPRETACION DE RESULTADOS.

En caso de AMF debida a incompatibilidad ABO, se considera significativo un título de anti-A o anti-B inmunes mayor de 1:10.

11.3.4.2. NEUTRALIZACION CON 2-MERCAPTOETANOL (2-ME).

FUNDAMENTO.

El tratamiento de anticuerpos anti-A o anti-B con 2-ME, provoca su inactivación por ruptura de puentes de hidrógeno, principalmente cuando su naturaleza es IgM, ya que los de naturaleza IgG normalmente resisten este tratamiento.

MUESTRA BIOLÓGICA: Suero problema.

Suero de un individuo normal, de sexo masculino,
del mismo grupo ABO.

METODO.

- 1.- Prepare una solución 0.2 M de 2-ME en amortiguador de fosfatos a pH de 7.2.
- 2.- Rotule 4 tubos de 12 x 75 mm 1 2 3 4.
- 3.- Coloque en los tubos 1 y 2, un volumen de suero problema, y en los tubos 3 y 4 un volumen de suero normal.
- 4.- Adicione a los tubos 1 y 3 un volumen de solución 0.2 M de 2-ME y a los tubos 2 y 4 un volumen de amortiguador de fosfatos pH 7.2, (o bien

un volumen de solución salina isotónica). Los volúmenes empleados de los sueros y el amortiguador de fosfatos o la solución salina, pueden ser de 1.5 ml; se ha encontrado que estos volúmenes son adecuados para el desarrollo de la técnica.

5.- Mezcle perfectamente el contenido de los tubos.

6.- Incube a 37°C por 2 h. IMPORTANTE: Evite la evaporación del 2-ME en los tubos que lo contienen; tápelos con papel parafilm.

7.- Fabrique 4 bolsitas para diálisis y vacíe en ellos el contenido de cada uno de los 4 tubos de la prueba. Cierre las bolsitas y someta a diálisis contra amortiguador de fosfatos pH 7.2 (o contra solución salina) durante toda la noche, a 4°C. Coloque el vaso de diálisis en un agitador magnético e introduzca una barrita magnética. Haga funcionar el agitador y tenga la precaución de colocar las bolsitas bien separadas para que no se enreden, con el objeto de obtener una buena diálisis. Identifique claramente el contenido de cada una de las bolsitas.

8.- Vacíe el contenido de las bolsitas de diálisis en tubos de 13 x 100 mm rotulados, inmediatamente centrifugue a 3 400 rpm por 5 min.

9.- Decante los sueros en tubos limpios y rotulados adecuadamente.

10.- Prepare diluciones dobles progresivas de los 4 tubos (suero problema mas 2-ME, suero problema mas amortiguador de fosfatos, suero normal mas 2-ME, suero problema mas amortiguador de fosfatos). Total 6 tubos.

11.- Monte para cada prueba 3 series de 6 tubos de 10 x 75 mm cada una ($3 \times 6 = 18 \times 4$ pruebas = 72 tubos).

12.- Adicione al tubo correspondiente de cada serie, 2 gotas de la dilución respectiva; comience a repartir por la dilución más alta.

13.- Adicione a los tubos de la primera serie de cada una de las pruebas, una gota de suspensión al 2% de eritrocitos A₁. A los tubos de la segunda serie una de eritrocitos B y a la tercera una de eritrocitos O.

14.- Mezcle el contenido de todos los tubos.

15.- Centrifugue todos los tubos a 3 400 rpm por 30 seg.

16.- Comenzando con los tubos correspondientes a las diluciones más altas, resuspenda los botones celulares con agitación moderada; observe continuamente contra una fuente de luz blanca.

17.- Reporte minuciosamente cada uno de los resultados obtenidos, de aglutinación macroscópica o bien negativos. (salina rápida).

18.- Incube a 37°C por 60 min.

19.- Vuelva a centrifugar y a leer; reporte cuidadosamente sus resultados.

20.- Lave 3 veces con solución salina isotónica los eritrocitos de los tubos cuya reacción de aglutinación haya sido negativa; centrifugue a 3 400 rpm por 90 seg para cada lavado. En el último de ellos, decante completamente la solución salina y seque el remanente sobre una gasa limpia y seca.

21.- Adicione a cada tubo una gota de suero de Coombs; mezcle hasta resuspender completamente los botones celulares.

22.- Centrifugue a 3 400 rpm por 30 seg.

23.- Comenzando por los tubos correspondientes a la dilución más alta, resuspenda los botones celulares con agitación moderada; observe continuamente contra una fuente de luz blanca.

24.- Reporte sus resultados; anote la graduación de las reacciones po

sitivas de aglutinación, así como las reacciones negativas.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS.

Cuando los títulos para los anticuerpos anti-A o anti-B son similares tanto para el suero problema tratado con 2-ME como sin tratar (diluído solamente con amortiguador de fosfatos o con solución salina), se considera una prueba definitiva de existencia de anticuerpos IgG de especificidad anti-A o anti-B.

Se considera significativo el hallazgo de títulos de anti-A o -B inmune de 1:16 o mayores.

MEDIDAS DE SEGURIDAD Y CONTROL.

- 1.- Emplee solución de 2-ME preparada recientemente.
- 2.- Recuerde tapar los tubos con 2-ME cuando se incubaba a 37°C para evitar su pérdida por evaporación.
- 3.- Las bolsitas de diálisis deben prepararse adecuadamente para evitar pérdidas de volumen de las mezclas. Los lazos deben atarse fuertemente.
- 4.- Rotule adecuadamente las muestras durante todo el procedimiento con el fin de evitar confusiones e interpretaciones erróneas del resultado.
- 5.- Emplee material escrupulosamente limpio y seco.
- 6.- Los eritrocitos de grupo ABO que se emplean deben contar con un control de calidad previo.
- 7.- Cheque el funcionamiento adecuado del refrigerador donde se dializan los sueros (2-6°C) y de la estufa o baño maría a 37°C.
- 8.- El suero AGH que se emplea debe contar con el control de calidad adecuado.
- 9.- Recuerde que en toda titulación de anticuerpos las lecturas se de

ben de efectuar comenzando por las diluciones más altas.

10.- Para que la prueba tenga validez, los controles del problema (neutralizado con 2-mercapto etanol o con amortiguador de fosfatos) no deben aglutinar los eritrocitos del grupo O. Del mismo modo, la prueba es va lida cuando los resultados de aglutinación que se obtienen con suero problema neutralizado con 2-mercapto etanol son definitivamente mayores (en intensidad y título) que los sueros normales tratados con 2-mercapto etanol. Normalmente se encuentran títulos bajos de anti-A o anti-B ímunes en individuos de grupo sanguíneo E, A, u O.

11.- El control que demuestra la actividad de 2-mercapto etanol está constituido por las pruebas de suero normal tratado y sin tratar con este reactivo; se debe de observar una disminución total (o casi total) de la actividad aglutinante de 2-mercapto etanol, contra los eritrocitos A y/o B.

12.3.5. ANTICUERPOS LIBRES EN EL SUERO FUERA DEL SISTEMA ABO.

En la búsqueda de anticuerpos irregulares fuera del sistema ABO empleamos células del grupo O de las que conocemos el fenotipo de los siguientes sistemas de grupo sanguíneo: Rh-Hr, MNSs, P, Duffy, Kell, Kidd, Diego, Lewis, Lutheran, Xg. Para saber si hay anticuerpos irregulares fuera del sistema ABO en el suero del paciente se prueba su suero con los eritrocitos del panel.

El panel y el semipanel es un número de células conocidas que contienen todos los antígenos de los 10 sistemas de grupo sanguíneo antes mencionados.

Se titula el suero problema contra los eritrocitos que contengan el antígeno específico en el medio más adecuado.

La búsqueda de anticuerpos irregulares fuera del sistema ABO en la sangre de los pacientes como los donadores debería ser realizada como rutina en medicina preventiva, al igual que en todos los enfermos, particularmente en aquellos candidatos potenciales a una o varias transfusiones de sangre.

FUNDAMENTO.

La prueba se basa en la reacción antígeno-anticuerpo. El antígeno esta representado por las suspensiones de eritrocitos cuyos fenotipos de los grupos sanguíneos más frecuentes se conocen y se tienen en el panel. El anticuerpo desconocido, que se encuentra en el suero problema, se enfrenta a este panel de eritrocitos en condiciones óptimas de reacción para obtención de reacciones específicas de aglutinación o de hemólisis.

MUESTRA BIOLÓGICA.

1.- Se obtiene sangre del paciente en un tubo sin anticoagulante, en condiciones óptimas.

2.- Preparación de la muestra.

2.1.- Deje coagular perfectamente la muestra.

2.2.- Separe cuidadosamente el coágulo.

2.3.- Centrifugue 5 min a 3 400 rpm.

2.4.- Separe el suero problema en alícuotas de 0.5 ml y congélelas claramente rotuladas. Conserve solamente el suero necesario para realizar la prueba.

2.5.- Prepare cuatro series de 12 tubos cada una y rotúlelas como si-

gue:

Serie I:	1	2	3	10	T
Serie II:	1s	2s	3s	10s	Ts
Serie III:	1a	2a	3a	10a	Ta
Serie IV:	1L	2L	3L	10L	TL

2.6.- Reparta dos gotas del suero problema en cada uno de los tubos de las cuatro series.

2.7.- Adicione a cada tubo de las 4 series una gota de eritrocitos de panel correspondiente (a la serie IV adicione eritrocitos en amortiguador de Lics).

2.8.- Al tubo número 11 de cada serie, adicione una gota de eritrocitos problema suspendidos al 2% en su propio suero. Este tubo es el autotestigo. (T).

2.9.- Mezcle perfectamente las cuatro series de tubos con suero y eritrocitos.

- a) Incube la serie I a 22°C durante 60 minutos.
- b) Centrifugue 30 seg a 3 400 rpm.
- c) Observe y reporte (salina 22°C = S/22°).
- d) Adicione a cada uno de los tubos una gota de bromelina, preparación comercial (recien reconstituída). Mezcle.
- e) Incube 15 min a 22°C.
- f) Centrifugue 30 seg a 3 400 rpm.
- g) Observe y reporte aglutinación macroscópica (Br/22°).
- h) Incube éstos tubos a 37°C durante 15 min.

i) Centrifugue 30 seg a 3 400 rpm.

j) Observe y reporte aglutinación macroscópica (Br/37°). Incube 30 minutos más.

k) Lave con solución salina 3 veces los eritrocitos de los tubos cuyo resultado de aglutinación sea negativo.

l) Al final de la última lavada, escurra toda la solución remanente en una gasa limpia y seca.

m) Adicione a cada tubo 2 gotas de suero AGH. Mezcle perfectamente.

n) Centrifugue 30 seg a 3 400 rpm.

o) Observe y reporte aglutinación macroscópica (o microscópica en su caso) (Br/Coombs, Br/C).

2.11.- Centrifugue los tubos de la serie II durante 30 seg a 3 400 rpm; observe aglutinación macroscópica (salina rápida; s/r).

2.12.- A los tubos de la serie III adicione 2 gotas de albúmina bovina 30% (o 3 gotas de albúmina 22%). Mezcle. Centrifugue 90 min a 3 400 rpm; observe y reporte aglutinación macroscópica (albúmina rápida a/r).

2.13.- Incube a 37°C los tubos de la serie II y III durante 60 min y los de la serie IV durante 15 min.

2.14.- Centrifugue a 3 400 rpm los tubos de la serie II 30 seg y los de la serie III 90 seg. Observe y reporte aglutinación macroscópica.

Siga los incisos k) al o) del punto número 2.10.

2.15. Después de los 15 min de incubación, proceda con los tubos de la serie IV como en los incisos de la k a la o del punto 2.10.

NOTA IMPORTANTE.

En caso de que el grupo sanguíneo del problema sea A, B, o AB, inclu-

ya en el estudio eritrocitos del grupo A_1 , A_2 , y/o B, según sea el caso.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS.

Obtenga la probable especificidad de (los) anticuerpo(s) encontrado (s) empleando el registro o Carta del Panel, y sus resultados obtenidos en sus técnicas.

12.3.6. ANTIGLOBULINA HUMANA DIRECTA.

La prueba se emplea para la investigación de proteínas fijadas en la membrana de los eritrocitos.

FUNDAMENTO.

La prueba se basa en la reacción antígeno anticuerpo, mediante el empleo de suero de antiglobulina humana de amplio espectro (AGH) y/o sueros antiglobulina humana monoespecíficos.

MATERIAL Y REACTIVOS.

- 1.- Suero anti-Rh^o(D) albuminoso.
- 2.- Suero antiglobulina humana de amplio espectro (suero de Coombs).
- 3.- Suero antiglobulina humana monoespecífico (Coombs específicos).

Anti-IgG, -IgA, -IgM, -C₃, y -C₄.

- 4.- Amortiguador sucrosa fosfatos pH = 6.1.

MUESTRAS BIOLÓGICAS.

- 1.- Sangre con anticoagulante (EDTA) del problema.
- 2.- Sangre reciente de donadores normales de grupo O.
- 3.- Eritrocitos normales grupo O, R_1R_1 , y R_2R_2 .
- 4.- Preparación de las muestras.
 - 4.1.- Muestra problema.

a) Lave 3 veces una alícuota de eritrocitos problema para cada temperatura con 50 veces su volumen de solución salina; emplear para esto solución salina conservada a varias temperaturas (4, 22, y 37°C).

b) Resuspender los eritrocitos lavados a las 3 temperaturas al 2% en solución salina.

4.2.- Eritrocitos sensibilizados con IgG (testigo positivo).

a) Pool de eritrocitos O positivo ($R_1R_1 - R_2R_2$) ... 1 volumen. Lavados y suspendidos al 50%.

Anti-D diluído 1:32 ... 4 volúmenes. Del que se emplea en el BCS. Incube 30 min a 37°C, mezcle cuando menos 2 veces.

Lave los eritrocitos 3 veces con solución salina y resuspenda al 2%.

4.3.- Eritrocitos no sensibilizados con IgG (testigo negativo).

a) Eritrocitos O negativos (r/r) lavados y suspendidos al 50% ... 1 volumen.

Anti-D diluído 1:32 ... 4 volúmenes.

b) Trate estos eritrocitos igual que los del punto anterior.

4.4.- Eritrocitos sensibilizados con complemento (testigo positivo).

a) Eritrocitos O positivos lavados 3 veces y suspendidos al 2%... 0.1 ml, con solución salina.

b) Pool de suero fresco del grupo O sin anticuerpos irregulares ... 0.05 ml.

c) Amortiguador sucrosa fosfato ... 8.5 ml.

d) Incubar 30 min a temperatura ambiente.

e) Centrifugar a baja velocidad (1 000 rpm).

f) Eliminar el sobrenadante y sustituirlo por suero fresco de grupo O.

g) Resuspender y guardar en frasco gotero estéril oscuro. Refrigerar.

h) Estos eritrocitos tienen vigencia de una semana, y para emplearlos se lavan 4 veces con solución salina y se resuspenden al 2%.

4.5.- Eritrocitos sin sensibilización con complemento. (testigo negativo).

Seguir la misma técnica descrita en el punto anterior, sustituyendo en el inciso b) el pool de suero fresco por un pool de suero inactivado a 56°C durante 30 min.

4.6.- Tomar en cuenta que:

a) Tanto las muestras problemas como los testigos deben quedar listos para su uso en el preciso momento de hacer las pruebas, ya que el resultado puede alterarse si las suspensiones de eritrocitos se preparan con mucho tiempo de anticipación a la preparación de las pruebas.

b) Las muestras de los problemas deben ser de tomas recientes; de no ser así, se debe consignar por escrito el tiempo y las condiciones de manejo de las mismas.

PROCEDIMIENTO.

1.- Prueba de antiglobulina humana directa (AGHD) o Coombs directo.

1.1.- Prepare diluciones dobles progresivas del suero AGH con solución salina, en tubos de 10 x 75 mm (8 tubos, el primer tubo contendrá suero sin diluir).

1.2.- Monte 5 series de 9 tubos de 10 x 75 mm cada una. Reparta en cada uno de ellos y en forma correspondiente, 2 gotas de las diluciones (comensando por la dilución más alta). Al noveno tubo de cada serie, adicione 2 gotas de solución salina.

1.3.- A cada uno de los tubos de las primeras 3 series, adicione en forma correspondiente una gota de eritrocitos problema lavados y suspendidos en la forma ya descrita; adicionar a la cuarta serie una gota de eritrocitos sensibilizados con IgG y a la quinta serie una gota de eritrocitos no sensibilizados con IgG.

1.4.- Centrifugar todos los tubos a 3 400 rpm durante 30 seg.

1.5.- Observar y reportar aglutinación macroscópica (o en su caso microscópica).

1.6.- Anote en el reporte: Título encontrado (dilución a la cual la prueba aún es positiva), a cada una de las temperaturas, así como el cómputo en cada uno de los casos.

También es muy importante que anote la marca del suero AGH empleado, así como su número de lote. No olvide reportar el resultado de la prueba con los eritrocitos testigo positivo y negativo.

1.7.- Se debe tomar en cuenta:

a) La prueba se debe practicar con mayor celeridad posible, ya que el suero ACH es particularmente labil a los efectos de la temperatura ambiente y otros factores que eventualmente pueden disminuir su actividad o inactivarlo.

VALORES DE REFERENCIA.

Coombs directo negativo.

12.3.7. ESPECIFICIDAD DEL ANTICUERPO UNIDO A ERITROCITOS.

Es posible eliminar de la superficie de la membrana de los eritrocitos el anticuerpo o proteína adheridos, mediante tratamientos físicos, quí

micos o combinación de los mismos, y demostrar su especificidad enfrentándolos contra diferentes sistemas antigénicos. A la técnica que se sigue para conseguir este objetivo se le ha denominado Elusión o Desunión del Anticuerpo, y el producto de la Elusión se le llama comúnmente Eluido o Anticuerpo Desunido.

FUNDAMENTO.

Los tratamientos físicos y/o químicos a que se someten los eritrocitos con anticuerpos o proteínas fijadas a su membrana, rompen esta unión. En el caso de la unión antígeno-anticuerpo, ésta se rompe por diferentes mecanismos, ya sea por la termolabilidad del sistema antígeno-anticuerpo, por la ruptura de la membrana y/o su desnaturalización parcial, o por la combinación de estos mecanismos.

MATERIAL Y REACTIVOS.

- 1.- Baño de agua 45°C y/o 56°C.
- 2.- Albúmina bovina (22% ó 30%)
- 3.- Eter anhidro Q. P.

MUESTRAS BIOLÓGICAS.

- 1.- Sangre reciente del paciente con anticoagulante EDTA.
- 2.- Eritrocitos conocidos: R_1R_1 , R_2R_2 , r/r, de cordón, Xg^a . En caso de que el paciente tenga grupo sanguíneo A, B, o AB, se emplean eritrocitos conocidos A, B, y/o AB.
- 3.- Preparación de las muestras.
 - 3.1.- Los eritrocitos conocidos, se lavan y se suspenden en solución salina al 2%.
 - 3.2.- Los eritrocitos del problema se tratan de la siguiente manera:

a) Lave una alícuota de paquete globular del problema (1.0 a 1.5 ml es un volumen adecuado) 3 veces con solución salina.

b) Centrifugue perfectamente en el último lavado (4 000 rpm 5 min).

c) Elimine totalmente el sobrenadante.

d) Adicione solución salina ... $\frac{1}{2}$ volumen.

e) Mezcle perfectamente.

12.3.7.1. TRATAMIENTO CON CALOR 45°C ó 56°C.

1.- Tape el tubo con la muestra del problema preparado, con parafilm.

2.- Ponga el tubo en el baño de agua a 45°C ó 56°C.

3.- Incube en estas condiciones durante 10 a 20 min.

4.- Durante la incubación agite vigorosamente los eritrocitos (por lo menos cada 2 min).

5.- Retire el tapón de parafilm y centrifugue durante 5 min a 4 000 rpm.

6.- Separe el sobrenadante (eluido o desunido) y recentrifugue durante 5 min a 3 400 rpm.

7.- Prepare dos series de tubos de 10 x 75 mm y rotúlelos. De 5 tubos cada uno.

8.- Separe en dos porciones iguales el volumen total del eluido. Reparta la primera porción en un número igual de gotas en los tubos de la serie I.

9.- Adicione a cada tubo de la serie I, una gota de los eritrocitos conocidos preparados, que correspondan a cada uno.

10.- Con la segunda porción del eluido, practique diluciones dobles

progresivas (8 tubos) y reparta el volumen total de cada una de estas diluciones en un número igual de gotas en los tubos correspondientes (4 ó 5 series).

11.- Adicione a los tubos que corresponda, una gota de eritrocitos conocidos y preparados.

12.- Una vez preparadas las series, practique las técnicas:

Salina rápida.

Salina a 22°C durante 60 min.

Albúmina rápida.

Albúmina a 37°C durante 60 min.

Albúmina Coombs.

13.- Reporte los resultados por intensidad de aglutinación y/o título, así como el computo para cada una de las células en cada una de las técnicas.

14.- Haga las conclusiones pertinentes.

VALORES DE REFERENCIA.

Negativo.

12.3.7.2. TRATAMIENTO CON ÉTER ANHIDRO.

1.- Adicione al tubo con la muestra problema preparada $\frac{1}{2}$ volumen de éter anhidro.

2.- Agite enérgicamente durante 10 min (tape el tubo perfectamente con tapón de corcho).

3.- Quite el tapón con precaución (enfríe ligeramente el tubo para evitar la proyección del contenido).

4.- Centrifugue 10 min a 3 400 rpm.

5.- Elimine las capas superiores (éter y estroma desnaturalizado)

6.- Decante la capa inferior remanente, que constituye el eluido.

7.- Recentrifugue 5 min a 3 400 rpm. Decante.

8.- Coloque el eluido en un tubo e incube a 37°C durante 15 min y/o pase una corriente de aire seco hasta eliminar totalmente el éter del eluido.

9.- Practique las técnicas recomendadas en el número 12 del procedimiento con calor (el eluido se reparte y se titula conforme el protocolo establecido en los pasos 7 al 11 del procedimiento con calor).

10.- Reporte los resultados por intensidad de aglutinación y/o título, así como el computo para cada una de las células para cada una de las técnicas.

11.- Haga las conclusiones pertinentes.

VALORES DE REFERENCIA.

Negativo.

12.3.7.3. DESPEGADO DE ANTICUERPOS DE ERITROCITOS INTACTOS A pH ACIDO.

REACTIVOS.

Amortiguador glicina-HCl pH 3 275 mOsmol/l.

Glicina Q. P. 7.507 g.

NaCl 5.844 g.

H₂O desmineralizada cbp 1 000 ml.

Ajuste el pH a 3.0 adicionando HCl 0.1 N.

Checkar la osmolaridad del amortiguador (275 mOsmol/l).

Trishidroxietilaminometano 0.5 M, pH 10.5.

THMAM 60.5 g.

H₂O destilada cbp 1 000 ml.

Cheque el pH (debe de ser de 10.5 \pm 0.2).

PROCEDIMIENTO.

1.- Mezcle un volumen de paquete de eritrocitos problema lavados 3 veces con 50 volúmenes cada vez de solución salina helada (2-4°C) y enfriados en refrigerador, con un volumen de solución salina también helada.

Adicione a la suspensión anterior de eritrocitos problema, que ha quedado al 50%, un volumen de amortiguador glicina-HCl helada.

3.- Agite cuidadosamente por un momento, dentro de un recipiente con hielo picado.

4.- Centrifugue por un min a 3 400 rpm.

5.- Separe el despegado de anticuerpos y mida su volumen.

6.- Ajuste el pH del despegado de anticuerpos hasta 7.0 aproximadamente; para esto, adicione \pm 20 microlitos de THMAM por cada mililitro de anticuerpos. Centrifugue 3 min a 4 000 rpm para eliminar el precipitado que se formó, decante y cheque el pH con papel indicador.

7.- Pruebe el sobrenadante que son los anticuerpos despegados, seleccione las células necesarias.

VALORES DE REFERENCIA.

Negativo.

12.3.7.4. DESPEGADO DE ANTICUERPOS DE ERITROCITOS CON TRICLOROETILENO.

REACTIVOS.

Cloroformo R. A.

Tricloroetileno R. A.

Prepare una mezcla de los 2 solventes V:V. Tenga precaución, el tricloroetileno es neurotóxico y se debe manejar exclusivamente en campana de extracción.

PROCEDIMIENTO.

- 1.- Lave 6 veces los eritrocitos problema con solución salina (es preferible usarla a 4°C)*.
- 2.- Obtenga el paquete globular ... 1 volumen.
- 3.- Adicione solución salina 1 volumen.
- 4.- Adicione mezcla cloroformo tricloroetileno ... 2 volúmenes. Procede todo el tiempo en campana de extracción.
- 5.- Mezcle cuidadosamente.
- 6.- Incube a 37°C durante 5-10 min mezcle por agitación leve cada minuto.
- 7.- Centrifugue a 6 000 rpm durante 5 min.
- 8.- Separe el despegado obtenido en la capa superior, que contiene el (los) anticuerpo(s).
- 9.- Recentrifugue a 3 400 rpm por 5 min.
- 10.- Pruebe el despegado de anticuerpo(s) contra las células necesarias.

*No emplee más de 1.0 ml de eritrocitos para esta técnica.

VALORES DE REFERENCIA.

Negativo.

12.3.8. PRUEBAS CRUZADAS DE COMPATIBILIDAD.

FUNDAMENTO.

La prueba cruzada de compatibilidad entre la sangre de un receptor y la sangre de un donador, tiene por objeto comprobar hasta donde es posible que el suero de cada una de estas sangres no están presentes anticuerpos específicos contra los antígenos con los que van a estar en contacto, evitando así, una reacción antígeno-anticuerpo en la circulación del receptor que puede ser de resultados desastrosos.

MATERIAL Y REACTIVOS.

Solución salina isotónica estéril.

Albúmina bovina al 30% o al 22%.

Ficina.

Bromelina.

Suero de Coombs.

Medio albúminoso-suero AB (50-50).

Amortiguador Liss.

PROCEDIMIENTO.

Obtención de la muestra.

Donador. Todas las unidades (bolsas de plástico) tienen segmentos anexos de sangre con anticoagulante.

Receptor. Un tubo de sangre coagulada fresca de 5 ml es suficiente para varias pruebas.

Estos tubos donador y receptor se centrifugan para hacer aparente la separación del suero y coágulo.

Se lavan los glóbulos rojos (37°C con solución salina) del donador

perfectamente rotulados y se resuspende al 2% en solución salina.

Con una pipeta pasteur, se extrae suero del tubo receptor y se colocan 2 gotas en el tubo (D), y de la misma forma, 2 gotas de suero del tubo del donador al tubo (R), de esta manera tendremos:

a) En el tubo (R), glóbulos rojos del receptor más suero del donador, a esta prueba se le llama prueba menor.

b) En el tubo (D), tendremos glóbulos rojos del donador más suero del receptor, a esta prueba se le llama prueba mayor por ser la que refleja "in vitro" desde el punto de vista cantidad, lo que sucede en la circulación del receptor.

En todas las pruebas de compatibilidad, es necesario incluir un tubo que contenga suero del receptor con sus propios glóbulos rojos (autotestigo) como control, manejado de la misma manera y en los mismos medios de las pruebas cruzadas. En esta forma colocaremos en una gradilla un solo problema con todos los tubos necesarios perfectamente rotulados con las técnicas que debemos emplear en cada caso.

En el cuadro número 10 se observan las pruebas de compatibilidad pretransfusionales.

NOTA.

Todas las técnicas fueron sacadas del Manual de Laboratorio del Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional. (59).

13. RESULTADOS Y CUADROS.

CUADRO NUMERO 20.

Los datos de este cuadro permite distinguir el número importante de casos de recién nacidos con hiperbilirrubinemia no atribuible a anticuerpos antieritrocitarios.

CUADRO NUMERO 21.

Se nota la proporción de casos de hiperbilirrubinemia con y sin anticuerpos cuyo expediente pudo ser revisado.

CUADROS NUMEROS 22 Y 23.

En estos cuadros se observa que el estudio de anticuerpos es de utilidad cualquiera que sea la muestra de sangre aunque puede plantearse que lo mejor es estudiar siempre la sangre del niño y de la madre simultaneamente.

CUADRO NUMERO 24.

En la sangre de los niños se encontraron 12 casos con dos anticuerpos y un caso con tres anticuerpos.

En las sangres de las madres se encontraron 22 casos con dos anticuerpos y 9 con tres anticuerpos.

En este cuadro también se pone en evidencia el predominio de los casos secundarios a anticuerpos ABO.

CUADRO NUMERO 25.

Nuevamente se aprecia la mayor proporción de casos secundarios a anti

cuerpos del sistema ABO. Se aprecia con claridad la importancia de los anticuerpos anti-Lewis detectados solamente en sangre materna.

CUADRO NUMERO 26.

La frecuencia de la EHRN por A/B en el primer embarazo resulta aparentemente alto y notablemente mayor cuando el grupo sanguíneo del niño fue del grupo A,

CUADRO NUMERO 27.

La observación trascendente sobre el empleo de la transfusión en niños con EHRN por anticuerpos A/B, es decir, aquellos a quienes se les aplico transfusión probablemente por anemia, cuando la sangre transfundida fue del mismo grupo ABO que del paciente, ocasiono mayor hiperbilirrubinemia que obligo a la exsanguinotransfusión. En contraste a aquellos que recibieron transfusión de glóbulos rojos O no requirieron de exsanguinotransfusión.

CUADRO NUMERO 28.

Es notable el número de niños exsanguinados cuando el peso es menor de 2.5 kg.

CUADRO NUMERO 29.

En estos datos no se vio influencia del peso del niño en la necesidad de exsanguinotransfusión, en cambio es notable la frecuencia de kernicterus.

CUADRO NUMERO 30.

Si recordamos la frecuencia de EHRN por ABO, en este cuadro se ve que por anti-D es menor particularmente cuando el grupo A/B del niño es O.

CUADRO NUMERO 31.

Se observa, como ha sido reportado anteriormente, la reacción de anti globulina humana directa frecuentemente es negativa en la EHRN ABO.

CUADRO NUMERO 32.

La técnica de despegado de anticuerpos de los eritrocitos del niño es eficiente en un 100% de los casos en que se empleo, incluso para el sistema ABO.

CUADRO NUMERO 33.

Se observa la proporción relativamente alta de pacientes que van a ser sometidos a exsanguinotransfusión y la observación de un número importante de casos con kernicterus.

CUADRO NUMERO 34.

En vista de la observación de kernicterus en los casos en que no hubo anticuerpos causantes de hemólisis, en este cuadro se analizo la influencia de la patología agregada en la aparición de kernicterus; se observa que ésta fue muy grande en los casos sin anticuerpos.

CUADRO NUMERO 35.

En este cuadro se observa el porcentaje de niños que necesitaron más de una exsanguinotransfusión.

ANALISIS DE 1 004 CASOS DE HIPERBILIRRUBINEMIA QUE
CURSARON CON Y SIN ANTICUERPOS ANTI-ERITROCITARIOS

PACIENTES	N°. DE CASOS	%
SIN ANTICUERPOS	594	59.16
CON ANTICUERPOS	410	40.83

CASOS DE HIPERBILIRRUBINEMIA CON Y SIN ANTICUERPOS
ANTI-ERITROCITARIOS, CUYO EXPEDIENTE FUE REVISADO

PACIENTES	N°. DE CASOS	%
CON HIPERBILIRRUBINEMIA	325	100.0
SIN ANTICUERPOS	184	56.61
CON ANTICUERPOS	141	43.39

CUADRO N°. 22

PORCENTAJE DE ANTICUERPOS ANTI-ERITROCITARIOS ENCONTRADOS EN LA SANGRE DEL NIÑO Y DE LA MADRE POR SEPARADO

SISTEMA	INVESTIGACION DE LOS ANTICUERPOS EN LA SANGRE DE:			
	MADRE		HIJO	
	Nº.	%	Nº.	%
ABO	45	100	30	100
Rh ^o (D)	12	100	4	100
c	0	0	1	100
MAS DE UN ANTICUERPO	2	100	3	100
DIFERENTES ANTICUERPOS FUERA DEL S.ABO Y Rh-Hr	9	100	0	0
OTROS ANTICUERPOS DE ESPECIFICIDAD NO CONOCIDA	6	100	0	0

UTILIDAD DE LA INVESTIGACION SIMULTANEA DE LOS ANTI
CUERPOS ANTI-ERITROCITARIOS EN LA MADRE Y EL HIJO

SISTEMA	NUMERO DE ANTICUERPOS ENCONTRADOS EN:		EHRN	CONGRUENCIA EN LA ESPECIFICIDAD DEL ANTICUERPO ENCON- TRADO.
	MADRE	HIJO		
ABO	21	21	21	TOTAL
Rh ^o (D)	7	7	7	TOTAL
c	1	1	1	TOTAL
MAS DE UN ANTICUERPO	3	3	3	TOTAL

CUADRO N°. 24

ESPECIFICIDAD DE LOS ANTICUERPOS ANTIERITROCITARIOS
IDENTIFICADOS EN LA SANGRE DEL NIÑO O EN LA SANGRE
MATERNA DE LOS 410 CASOS DE HIPERBILIRRUBINEMIA

ESPECIFICIDAD DE LOS ANTICUERPOS	IDENTIFICADOS EN: SANGRE DEL NIÑO	SANGRE DE LA MADRE
SISTEMA ABO	108	163*
Rh ^o (D)	27	35
c	7	4
MAS DE UNA**	13	31
C	1	0
E	1	0
OTROS DIFERENTES DEL S.ABO Y S.Rh-Hr***	0	20

* Anticuerpos inmunes IgG = 143 demostrados con la técnica de 2-mercapto etanol o neutralización con sustancia A/B; en el resto se demostró alto título de aglutininas (> 1:128) y/o hemolisinas altas (> 1:8).

CONTINUACION DEL CUADRO NUMERO 24

**

MADRE

A + D (3)
 c + E (3)
 A + B + D (3)
 D + C
 E + Jk^a + A
 D + E + S
 C + e
 E + S + N
 C + A
 D + C + A
 E + Di^a + B
 D + S
 A + P (4)
 E + C + Le^b
 D + P
 A + Le^a (3)
 H + I
 N + Le
 M + P
 D + B

HIJO

A + D
 c + E
 D + C
 A + c (2)
 B + S
 A + Fy^a
 E + S
 D + E
 A + Jk^a
 A + E + Jk^a
 B + D
 A + M

MADRE

Le (13)
 P (2)
 Fy (2)
 Jk (2)
 S

ESPECIFICIDAD DE LOS ANTICUERPOS ANTIERITROCITARIOS REPORTADOS EN LOS 141 CASOS CUYO EXPEDIENTE SE REVISÓ

ESPECIFICIDAD DE LOS ANTICUERPOS	IDENTIFICADOS EN: SANGRE DEL NIÑO	SANGRE DE LA MADRE
SISTEMA ABO	51	45
Rh ^o (D)	11	12
c	2	0
MAS DE UNA	3*	2**
OTROS DIFERENTES DEL S. ABO Y Rh-Hr	0	9***
OTROS ANTICUERPOS DE ESPECIFICIDAD NO DETERMINADA	0	6

* D + A
c + A
E + A + Jk^a

** M + P
A + P

*** Le (5)
Jk^a (2)
P (2)

FRECUENCIA DE LA EHRN POR EL SISTEMA ABO EN
EL PRIMER EMBARAZO EN 96 CASOS ANALIZADOS

GRUPO DEL NIÑO	N°. DE CASOS	OBSERVADO EN EL PRIMER EMBARAZO	
		N°.	%
A	68	25	36.76
B	28	5	17.85

TRANSFUSION EN NIÑOS CON EHRN POR ABO Y SU
RELACION CON LA EXSANGUINOTRANSFUSION

TIPO DE SANGRE TRANSFUNDIDA	N°. DE CASOS	EXSANGUINOTRANSFUSION		MAS DE UNA EXSANGUINOTRANSFUSION	
		N°.	%	N°.	%
PAQUETE GLOBULAR DEL MISMO GRUPO ABO Y Rh°(D) DEL NIÑO	12	12	100	5	42
PAQUETE GLOBULAR O Y Rh°(D) DEL MISMO TIPO DEL NIÑO	6	0	0	0	0

CUADRO N°. 28

PROPORCION DE PACIENTES CON EHRN POR ABO EXSANGUINADOS, CON PROBABLE KERNICTERUS Y PATOLOGIA AGREGADA EN 96 CASOS

N°. DE CASOS	PESO EN Kg	EXSANGUINADOS		PROBABLE KERNICTERUS		PATOLOGIA AGREGADA	
		N°.	%	N°.	%	N°.	%
14	Menos de 2.5	13	92.85	1	7.14	12	85.71
82	Más de 2.5	52	63.41	8	9.75	35	42.68

PROPORCION DE PACIENTES CON EHRN POR ANTI-D EXSANGUINADOS, CON PROBABLE KERNICTERUS Y CON PATOLOGIA AGREGADA EN 23 CASOS

N°. DE CASOS	PESO EN Kg	EXSANGUINADOS		PROBABLE KERNICTERUS		PATOLOGIA AGREGADA	
		N°.	%	N°.	%	N°.	%
2	Menos de 2.5	1	50.0	0	0	1	50.0
21	Más de 2.5	18	85.71	5	23.81	4	19.05

FALLA-DE-ORIGEN

CUADRO N° 30

FRECUENCIA DE LA LHRN POR APTT-E EN EL PRIMER EMBARAZO EN 23 CASOS ANALIZADOS

GRUPO DEL NIÑO	N° DE CASOS	OBSERVADO EN EL PRIMER EMBARAZO	
		N°	%
O +	18	1	5.55
A +	5	1	20.0
B +	0	0	0

CUADRO N°. 31

FRECUENCIA DE RESULTADOS POSITIVOS DE LA PRUEBA DE COOMBS (AGH) EN CASOS DE EHRN POR ANTICUERPOS ANTI-A, ANTI-B, Y ANTI-D.

SISTEMA	N°. TOTAL DE CASOS	COOMBS POSITIVO	
		N°.	%
ABO	51	15	29.4
ANTI-D	11	9	81.8

EFICIENCIA DE LA TECNICA DEL DESPAGADO DEL ANTICUERPO DE
 LOS ERITROCITOS DEL NIÑO EN LA INVESTIGACION DE LA PRE-
 SENCIA Y ESPECIFICIDAD DEL ANTICUERPO INDEPENDIENTE DE
 LA PRUEBA DE INMUNOGLOBULINA HUMANA DIRECTA

ESPECIFICIDAD DEL ANTICUERPO	N°. DE CASOS EN QUE SE EMPLEO	CASOS POSITIVOS	
		N°.	%
SISTEMA ABO	51	51	100
Rh°(D)	11	11	100
c	2	2	100
MAS DE UN ANTICUERPO	3	3	100

CUADRO N°. 33

PROPORCION DE PACIENTES SIN ANTICUERPOS EXSANGUINADOS, CON PROBABLE KERNICTERUS Y PATOLOGIA AGREGADA EN 184 CASOS

N°. DE CASOS	PESO EN Kg	EXSANGUINALOS		PROBABLE KERNICTERUS		PATOLOGIA AGREGADA	
		N°.	%	N°.	%	N°.	%
49	Menos de 2.5	34	69.38	2	4.08	37	75.51
135	Más de 2.5	72	52.55	12	8.88	91	67.4

CUADRO N°. 34

INFLUENCIA DE LA PATOLOGIA AGREGADA EN LA FRECUENCIA DE KERNICTERUS

GRUPO SANGUINEO	N°. TOTAL DE CASOS CON KERNICTERUS	PATOLOGIA AGREGADA			
		CON		SIN	
		N°.	%	N°.	%
ABO	9	4	44.4	5	55.5
Rh ^o (D)	5	1	20.0	4	80.0
SIN ANTICUER-POS	14	11	78.6	3	21.4

CUADRO N°. 35

RECIENTES NACIDOS QUE RECIBIERON MAS DE UNA
EXSANGUINOTRANSFUSION

SISTEMA	N°. DE CASOS EXSANGUINADOS	MAS DE UNA EXSANGUINOTRANSFUSION	
		N°. DE CASOS	%
ABO	65	10	15.3
Rh ^o (D)	19	8	42.1
SIN ANTICUERPOS	106	16	15.0

CUADRO N°. 36

PACIENTES CON ANEMIA HEMOLITICA

DIAGNOSTICO	N°. ESTUDIADO	%
Microesferocitosis hereditaria	20	4.0
Anemia africana	15	3.0
Talasemia beta	3	0.6
Anemia hemolítica familiar sin microesferocitosis	2	0.4
Anemia hemolítica adquirida	15	3.0
HIRN por aloinmunización mater no fetal	440	88.8

14. DISCUSION.

En un trabajo realizado en el Hospital Infantil de México, se pudo observar que de un grupo de niños anémicos el 4.5% tenían anemia hemolítica. (11).

En el año de 1964 se estudiaron en ese mismo hospital 38 pacientes con EHRN. Al comparar esta cifra con la de 5 pacientes por año de otras formas de anemias hemolíticas, la EHRN por aloanticuerpos fue 8 veces más frecuente que todas las otras anemias hemolíticas del niño tomadas en conjunto. En este mismo trabajo se reporta la proporción de los tipos de anemias hemolíticas en pacientes pediátricos, observándose que el 88.8% de la EHRN es causada por aloanticuerpos antieritrocitarios. (cuadro número 36). Este análisis es un ejemplo de las posibles causas de enfermedad hemolítica en el recién nacido. (11).

En el presente trabajo es importante la observación (cuadro número 20) de que en el 59.16% del total de casos de hiperbilirrubinemia no se encontró un anticuerpo antieritrocitario como causa, siendo el 40.83% de las hiperbilirrubinemias causadas por diferentes anticuerpos de los diferentes grupos sanguíneos, principalmente por el sistema ABO y el sistema Rh-Hr; aunque, no fue el propósito de este trabajo distinguir con precisión a que fue secundaria la alta frecuencia de casos de hiperbilirrubinemia. Es importante subrayar que es muy probable que este incluya otras anemias hemolíticas del recién nacido.

De los pacientes cuyo expediente fue revisado se observan porcentajes similares a los mencionados antes, tanto para la hiperbilirrubinemia causada por anticuerpos como la no causada por anticuerpos. (cuadro número 21).

De los datos de los cuadros números 22 y 23 es conveniente destacar, que el estudio simultáneo de los anticuerpos de la sangre de la madre y el hijo es lo mas apropiado para tener la mayor probabilidad del diagnóstico; ya que en los dos se demuestra y se puede comparar el anticuerpo causante, en cambio si se estudia solo a la madre, aunque se puede encontrar en este caso en un 100% los anticuerpos, solo nos va a dar la especificidad probable del anticuerpo presente, pero no la seguridad de que ese anticuerpo sea el causante de la EHRN, ya que el niño puede estar icterico por otra causa. Ahora bien, si se estudia solo el eluido del niño, éste nos va a dar la seguridad en un 100% del anticuerpo causante y por lo tanto la seguridad del diagnóstico; siempre y cuando el niño no haya sido exsanguinado previamente a la toma de la muestra, y que ésta haya sido tomada en óptimas condiciones (cantidad, anticoagulante, etc.).

En los casos del presente trabajo, según la especificidad de los anticuerpos (cuadro número 24), se ve el predominio de los anticuerpos anti-ABO como causa de hiperbilirrubinemia siendo en comparación con los relacionados al anti-Rh^o(D) en una proporción de 4 a 5 por uno de D.

Se ha reportado en otros países que la incompatibilidad materno fetal en el sistema ABO tiene establecido lo siguiente. (4).

- 1.- Un 20% de los embarazos son heteroespecíficos para el grupo sanguíneo ABO.
- 2.- Un 20% de los niños nacidos de dichos embarazos potencialmente incompatibles presentan signos clínico-biológicos de EHRN, generalmente leves.
- 3.- Alrededor del 13% de los casos de EHRN ABO tienen cierta agresevi

dad inmunohemolítica, hasta necesitar un tratamiento con exsanguinotransfusión.

4.- Un 95% de los casos de EHRN ABO son de madres del grupo O e hijos del grupo A o B. Esto parece confirmar la diferente respuesta inmunológica de los sujetos del grupo O con los del grupo A o B.

5.- La EHRN ABO se detecta en una proporción notable de los casos durante el primer embarazo; a diferencia de lo que ocurre en la EHRN Rh^o(D). Este hecho confirma la importancia de otras vías de inmunización (heteroinmunización) en mujeres del grupo O, por sustancias del grupo A/B.

6.- El diagnóstico inmunológico de la sensibilización ABO materna y de la afectación neonatal puede ser un problema diferencial con otras ictericias precoces inmunológicas o no. (4).

En otros reportes, aproximadamente del 20-25% de los embarazos son por incompatibilidad ABO o heteroespecíficos. La enfermedad clínica con hiperbilirrubinemia moderada sin anemia significativa, ocurre en un 10%. (7), (13). La enfermedad severa que requiere de exsanguinotransfusión se presenta en menos del 1%, (7), y puede ser causa de morbilidad neonatal. (13).

En un estudio de tipo estadístico realizado en Monterrey, N. L., se encontró como se menciona en el cuadro número 10 que del 24.15% de la EHRN ocasionada por aloanticuerpos, el 64.72% fue ocasionada por incompatibilidad ABO de los cuales el 44.86% fue por el anticuerpo anti-A y el 19.83% por el anticuerpo anti-B.

En este trabajo se encontró que:

1.- Un 68.08% de los embarazos son heteroespecíficos para el grupo sanguíneo ABO, de los cuales el 43.93% fue por el anticuerpo anti-A y el

19.15% por el anticuerpo anti-B.

2.- Un 32.28% de los niños nacidos de dichos embarazos potencialmente incompatibles presentan signos clínico-biológicos de EHRN generalmente leves.

3.- Alrededor del 67.58% de los casos con EHRN tienen cierta agresividad inmunohemolítica, hasta necesitar un tratamiento con exsanguinotransfusión.

4.- Un 96.5% de los casos de EHRN ABO son de madres del grupo O e hijos del grupo A o B.

5.- Un 31.25% de la EHRN ABO se presentó durante el primer embarazo.

Por otro lado, podemos observar también en el cuadro número 24 el análisis de los casos con más de un anticuerpo, se aprecia que no es común encontrar anticuerpos IgG que causen EHRN de aquellos anticuerpos que normalmente se encuentran como anticuerpos IgM, como es en el caso de anti-M. Se encontró también que del grupo de pacientes en donde solo se demostró el anticuerpo en el suero materno, llama la atención el gran número de anticuerpos anti-Lewis (13 de 20) que no tienen relación con la enfermedad hemolítica en el niño, si tomamos en cuenta que son anticuerpos IgM, y que pueden confundir el diagnóstico cuando no se tiene el estudio adecuado del niño.

En el trabajo realizado en el Hospital de Gineco Obstetricia del Centro Médico Nacional del I. M. S. S., se encontró al igual que en este estudio, que había un alto porcentaje de anticuerpos irregulares "naturales" presentes en el suero de las madres, principalmente anti-Lewis con una frecuencia de 54.6%, seguido de anti-P con un 22.4%. En este mismo trabajo se

CUADRO N°. 37

FRECUENCIA DE ANTICUERPOS INMUNES

ANTICUERPOS INMUNES LIBRES EN EL SUERO	HOSPITAL DE GINECO OBSTETRICIA %	HOSPITAL DE PEDIATRIA %
D	32	28.4
E	24	12.6
<u>c</u>	0	7.3
e	0	3.1
C	8	6.3
JK ^a	0	8.4
Fy ^a	4	2.1
S	0	10.0
Di ^a	0	1.0
s	4	1.0
JK ^b	0	1.0
Fy ^b	4	1.0
Di ^b	0	0
Sin especificidad definida	24	23.1

demonstró que los anticuerpos del sistema Rh-Hr más frecuentes en el Hospital de Gineco Obstetricia y Pediatría del Centro Médico Nacional, son el anti-D, anti-E, y anti-c, como se muestra en el cuadro número 37. (9).

En el presente estudio, en los casos en los que se pudo revisar el expediente clínico, también se encontró que los anticuerpos que ocasionan enfermedad hemolítica del recién nacido más frecuentes son los del sistema ABO.

Si observamos el cuadro número 26 que se refiere a la frecuencia de EHRN observada en el primer embarazo, se destaca el alto número que se presenta cuando la sensibilización es por el antígeno A; la diferencia estadística es significativa con una p menor de 0.05 entre los grupos A y B en el sistema ABO.

Mención especial debe hacerse de lo que es una conducta rutinaria en muchos casos de niños con EHRN por anti-A, -B, que como se anota en el cuadro número 27 propicia el que un número determinado de niños sean exsanguinados porque han sido transfundidos, seguramente por anemia, con paquete globular del mismo grupo ABO, es decir, se les han administrado antígenos contra los cuales son específicos los anticuerpos anti-A y/o anti-B maternos en el niño; con la agravante de que los glóbulos rojos transfundidos son de adulto, es decir, con un mayor número de sitios antigénicos que los que tienen los glóbulos rojos de recién nacido; esto ocasiona que algunos de estos niños sean exsanguinados más de una vez, (42%), por lo que debe proscribirse la transfusión de glóbulos rojos del mismo tipo sanguíneo A o B del niño cuando éste sufre de EHRN por anti-A o anti-B, y en su lugar emplear siempre glóbulos rojos empaquetados del grupo O, que no van a ser

destruidos por los anticuerpos de la madre en la circulación de su hijo.

Cuando se analizó la influencia de la patología agregada y el peso en relación con la necesidad de la exsanguinotransfusión y la observación del kernicterus para la EHRN por anticuerpos anti-A, -B; puede afirmarse que en esta casuística el peso promedio menor de 2.5 kg del producto guardo relación con la necesidad de exsanguinotransfusión y probablemente también influyo en ello la patología agregada. En cambio en el caso de EHRN por anti-D no hay aparentemente influencia de estos factores en la necesidad de exsanguinotransfusión aunque destaca la frecuencia de pacientes que presentaron kernicterus sin que en éstos haya influencia aparente ni del peso ni de la patología agregada.

Se puede observar en el cuadro número 30 que no es frecuente que se presente la EHRN por anti-D en el primer embarazo.

Se hizo también una comparación de la frecuencia de reactividad positiva con la prueba de antiglobulina humana directa para los casos de EHRN por anti-A, -B, y anti-D, se observo lo que ya ha sido reportado, que la prueba de AGH es más frecuentemente positiva en los casos de anti-D. Esto puede ser debido al poco desarrollo de los antígenos ABO y a la formación "defectuosa" del complejo antígeno más anticuerpo, lo que depende en mucho del desarrollo del correspondiente antígeno de las células rojas sanguíneas del feto o del recién nacido, como se muestra en el cuadro número 38. Los anticuerpos para este tipo de antígenos que se desarrollan tarde en la vida fetal no causan muerte intrauterina ni EHPN severa, su enfermedad puede ser leve o no tener la EHRN. (78).

Se puede observar también en el cuadro número 24 que el anticuerpo

CUADRO N°. 38

ANTIGENOS EN LAS CELULAS ROJAS SANGUINEAS DE CORDON

BIEN DESARROLLADOS	MAS DEBILES QUE EN EL ADULTO	MUY DEBILES O AUSENTES
Colton	ABH	Chido
Diego	Holley	I
Dombrock	Lutheran	Lewis
Duffy	P ₁	Rogers
En ^a		Sid
Gerbich		Vel
i		Yt ^a
Kell		Wj
Kidd		
McC ^a		
MNSsU		
Rh		
Scianna		
Yt ^b		

más frecuente que causa EHRN severa después de los anticuerpos anti-D, son los anticuerpos anti-c.

Debe subrayarse que según los resultados de este trabajo es indispensable hacer una prueba de elusión o despegamiento de anticuerpos de los eritrocitos del niño en todos los casos de EHRN independientemente de si se sospecha que son secundarios a anticuerpos anti-A, -B, -D, o algún otro anticuerpo, e independientemente del resultado de la prueba de antiglobulina directa. En el cuadro número 32 se observa que el procedimiento de despegamiento del anticuerpo es indudablemente lo más eficiente para asegurarse su diagnóstico y la especificidad del anticuerpo.

En el cuadro número 39 se muestra la especificidad de los anticuerpos que ocasionan EHRN fuera del sistema ABO y Rh^o(D) y su grado de severidad. (78).

Por último al analizar la influencia del peso y patología agregada en los casos de hiperbilirrubinemia no secundaria a anticuerpos se puede observar la influencia del peso al nacer y la patología agregada sobre la necesidad de exsanguinotransfusión. Sin embargo, el 30.4% de estos niños no tuvieron ningún antecedente que explicara la causa de la hiperbilirrubinemia; el 36.95% fue causada la hiperbilirrubinemia en el primer embarazo y el 7.6% de estos niños tenían antecedentes de hermanos ictericos.

Se pudo observar que la patología agregada aparentemente no tiene ninguna influencia sobre la frecuencia de kernicterus en los casos con anticuerpos ABO y Rh^o(D), pero en los casos con hiperbilirrubinemia sin anticuerpos se observa lo contrario como se muestra en el cuadro número 34.

En este trabajo también se pudo observar que varios de los niños que

SISTEMAS DE GRUPO SANGUINEO QUE IMPLICAN EHRN DIFERENTE DE ABO Y RH^o(D) Y SU GRADO DE SEVERIDAD

SISTEMA	ANTICUERPO	SEVERIDAD USUAL DE LA EHRN
Rhesus	C	Severa
	E	Severa
	<u>c</u>	Severa
	e	Leve-severa
	C ^w	Severa
	C ^x	Severa
	E ^w	Severa
	Go ^a	Severa
	f(ce)	Severa
	Berrens (Be ^a)	Rh:36
Evans (.D.)	Rh:37	Severa
R ^N	Rh:32	Severa
Kell	K	Leve-severa
	k	Leve
	Kp ^a	Leve
	Kp ^b	Leve
	Js ^a	Moderada
	Js ^b	Leve-moderada
	Ku	Leve-severa

CONTINUACION DEL CUADRO NUMERO 39.

SISTEMA	ANTICUERPO	SEVERIDAD USUAL DE LA EHRM
Duffy	Fy ^a	Leve-severa
	Fy ³	Leve
Kidd	Jk ^a	Leve
	Jk ^b	Leve
	Jk ³	Leve
MNSs	M	Leve-severa
	'N'	Moderada
	S	Leve
	s	Leve-severa
	U	Leve-moderada
	Far	Leve
	Mit	Leve
	Mt ^a	Leve
	v ^w	Leve-moderada
	Mur	Leve
	Hi1	Leve
	Hut	Leve
	En ^a	Leve
P	P, P ₁ , P ^k	Leve-severa
Ii	i	Leve

CONTINUACION DEL CUADRO NUMERO 39.

SISTEMA

ANTICUERPO

SEVERIDAD USUAL DE LA EHRN

Lutheran

Lu^a

Leve

Lu^b

Leve

Lu^g

Leve

Diego

Di^a

Leve

Di^b

Leve-severa

Cartwright

Yt^a

Leve

Yt^b

Leve

Dombrock

Do^a

Leve

tuvieron niveles de bilirrubina mayores de 20.0 mg/dl requirieron de más de una exsanguinotransfusión, independientemente de que hayan tenido o no anticuerpos antieritrocitarios. De los que tuvieron anticuerpos antieritrocitarios los que más frecuentemente necesitaron de más de una exsanguinotransfusión fueron los ocasionados por anti-D, (42.1%).

No se debe de esperar la sangre O Rh^o(D) negativa para que puedan ser exsanguinados los niños con enfermedad hemolítica por anti-D, ya que tenemos dos opciones de sangre para realizar la exsanguinotransfusión:

1.- Transfundir al niño con sangre de su mismo grupo sanguíneo y factor Rh^o(D) negativo.

2.- Con paquete globular O Rh^o(D) negativo reconstituido con plasma de su mismo grupo sanguíneo.

15. CONCLUSIONES.

En el material revisado en este trabajo la enfermedad hemolítica más importante que causa hiperbilirrubinemia frecuente y severa en el recién nacido es la causada por incompatibilidad materno fetal (40.83%).

La probabilidad del diagnóstico del laboratorio de la EHRN es mayor si el estudio se lleva a cabo simultáneamente en el suero materno y en los anticuerpos despegados de los eritrocitos del niño.

En la EHRN ABO se debe hacer el estudio del anticuerpo despegado de los eritrocitos aunque la prueba de antiglobulina humana directa sea negativa.

La EHRN por el sistema ABO aunque más frecuente, no se diagnostica oportunamente.

En el grupo estudiado, la EHRN por el sistema ABO no debe de ser soslayado dado que más del 50% de estos niños necesitaron tratamiento con exsanguinotransfusión.

La patología agregada y el peso al nacer son factores que influyen en el requerimiento de exsanguinotransfusión.

El 9.0% de los niños afectados por anticuerpos del sistema ABO tuvieron el diagnóstico de probable kernicterus.

No se debe transfundir a un niño con EHRN ABO con paquete globular de su mismo grupo sanguíneo. Se debe de transfundir siempre con paquete globular O.

Los antígenos del sistema Rh-Hr como el Rh^o(D), c, y de otros sistemas como el Kell, Kidd, etc. producen enfermedad hemolítica más severa que el sistema ABO.

La EHRN causada por anti-D, anti-c, anti-kell, etc., son fácilmente diagnosticados, ya sea por la prueba de antiglobulina humana directa, por el despegado de los anticuerpos del niño y/o en el suero de la madre.

En la EHRN por anti-D no hay ninguna influencia de la patología agregada para el requerimiento de exsanguinotransfusión y la frecuencia del kernicterus es muy alta.

Aún sin transfusión incompatible previa el 42,1% de estos niños necesitaron más de una exsanguinotransfusión.

La presencia de anticuerpos naturales irregulares de clase IgM en los sueros de las madres es muy alta y puede confundir el diagnóstico.

Casi el 60% de los casos de hiperbilirrubinemia del recién nacido no es causada por anticuerpos, de los cuales la patología agregada y el peso al nacer fueron factores importantes para el requerimiento de la exsanguinotransfusión como se anoto en el caso de la EHRN por ABO.

Como en la EHRN ABO también se observo más del 30% en el primer embarazo y la presencia del kernicterus esta influenciada grandemente por la patología agregada.

Por la existencia de estos últimos casos de hiperbilirrubinemia no causada por anticuerpos debe tenerse en cuenta que:

- Se debe de determinar hasta donde es posible la causa de la hiperbilirrubinemia.

- Contar con más de una sangre para exsanguinotransfusión.

- El personal de laboratorio obtenga la información oportuna procedente del servicio clínico a fin de identificar las causas de hiperbilirrubinemia, lo que redundara en un mejor estudio y un diagnóstico oportuno.

16. BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Alves de Lima; Berthier; Sad; Dinapoli; Johnson and Marsh: Characterization of an anti-Di^a antibody causing hemolytic disease in a newborn infant. *Transfusion*. 22(3): 246-247 (1982).
- 2.- N. V. Bhagavan: *Bioquímica*. Segunda Edición: Nueva Editorial Interamericana, S. A. de C. V. (1983).
- 3.- D. R. Branch: Fetal death due to extreme maternal Rh immune augmentation. *Transfusión*. 21(3): 281-284 (1981).
- 4.- Calabuig; Sánchez-Fayos; Outeiriño; Serrano; Pérez Iglesias; Pérez Piñón; Paniagua: La afectación inmunológica neonatal (ABO) entre el embarazo heteroespecífico (ABO) y la enfermedad hemolítica (ABO). *Sangre*. 22(4): 409-420 (1977).
- 5.- Clarke C.: Rhesus immunization during pregnancy: The case for antenatal anti-D. *Br. Med. J.* 280(6218): 903-904 (1980).
- 6.- Clarke C. et al.: Historical annotation rhesus haemolytic disease of the newborn and its prevention. *Br. J. of Haematology*. 52: 525-535 (1982).
- 7.- Larry N. Cook, MD: ABO hemolytic disease. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 25(2): 333-339 (1982).
- 8.- Roda .. Dalal; Malti S. Sathe and H. M. Bhatia: AEH blood group antigens during pregnancy and in women on hormonal contraceptives. *Indian J. Med. Res.* 76: 201-206 (1982).
- 9.- De la Rosa T. y Pérez T. R.: Tesis. Revisión de los anticuerpos fuera del sistema ABO en un servicio de referencia. COMALEP: IMSS. (1985).

- 10.- Sarah L. Dopp: Anti-U and hemolytic disease of the newborn. *Transfusión*. 23(3): 273 (1983).
- 11.- S. Dorantes Mesa: Diagnóstico de los problemas hematológicos en Pediatría. Asociación de Médicos del Hospital Infantil de México. (1971).
- 12.- V. E. Dube and C. S. Zoes: Subclinical hemolytic disease of the newborn associated with IgG anti-Lu^b. *Transfusión*. 22(3): 251-153 (1982).
- 13.- D. R. Dufour, M. D. and W. Patrick Monaghan: ABO hemolytic disease of the newborn. A retrospective analysis of 254 cases. *Am. Soc. of Clin. Patho.* 73(3): 369-373 (1980).
- 14.- Editorial: Haemolytic disease of the newborn caused by anti-U. *Lancet*. 28: 2(8257) 1232 (1981).
- 15.- Editorial: Haemolytic disease of the newborn due to antibodies other than rhesus anti-D. *Br. Med. J. (Clin. Res.)*. 22: 283(6290) 514-515 (1981).
- 16.- Editorial: Prevention of haemolytic disease of the newborn due anti-D. *Br. Med. J.* 282(28): 676-677 (1981).
- 17.- Editorial: Haemolytic disease of the newborn due to antibodies other than rhesus anti-D. *Br. Med. J. (Clin. Res.)*. 22: 283(6306): 1605-1606 (1981).
- 18.- Casey G. Falterman, M. D. and C. J. Richardson, M. D. Transfusión reaction due to unrecognized ABO hemolytic disease of the newborn infant. *The J. of Pediatrics*. 97(5): 812-814 (1980).
- 19.- Farreras Rozman: *Medicina Interna Tomo I. Cuarta reimpresión: Editorial Marin, S. A.* (1980).

- 20.- S. J. Ferguson; M. A. Blajchman; Guzewski; Taylor; Moulds: Alloantibody. Induced impaired neonatal expression of a red blood cell antigen associated with maternal alloimmunization. *Vox Sang.* 43: 82-86 (1982).
- 21.- Fink de Cabutti y M. Palatnic: Aloanticuerpos ABO en indígenas Toba del Chaco Argentino. *Sangre.* 26(4): 439-446 (1981).
- 22.- Firuni; Meloni; Milia; Viridis; Lo Dico; Stoppelli: Profilassi prenatale dell'iperbilirunemia da deficit di G6PD. *Minerva Ginecologica.* 35: 287-290 (1983).
- 23.- Fórre; Gaardes & Natving: V_H subgroup restriction in human erythrocyte antibodies: Studies of anti-A, anti-B, and anti-Duffy antibodies. *Scand. J. Immunol.* 6: 149-156 (1977).
- 24.- H. Fudenberg: *Inmunología clínica. Primera reimpression: Editorial El Manual Moderno, S. A. (1979).*
- 25.- H. Goldman, M. D. and D. Levinsky, M. D.: Hemolytic disease of the newborn caused by anti-Jk³. *Obstetrics & Gynecology.* 60(4): 526-528 (1982).
- 26.- F. J. Grundbacher: The etiology of ABO hemolytic disease of the newborn. *Transfusión.* 20(5): 563-568 (1980).
- 27.- F. J. Grundbacher and D. C. Shreffler: Effects of secreto, blood, and serum groups on isoantibody and immunoglobulin levels. *The Am. Soc. of Hum. Gen.* 194-202 (1970).
- 28.- S. C. Gupte; J. Kothari and H. M. Bhatia: Influence of birth weight on the severity of hemolytic disease of the newborn due to ABO incompatibility. *Indian Pediatrics.* 12(6): 477-483 (1975).

- 29.- S. C. Gupte, M. Sc. PhD. and H. M. Bhatia, M. Sc. PhD.: Erythrocyte membrane enzyme acetyl cholinesterasa in neonatal jaundice. *Indian J. Pediat.* 47: 267-271 (1980).
- 30.- T. Hegyi, M. D.; R. A. Polin, M. D.; J. M. Driscoll, Jr. M. D.: Conjugated hyperbilirubinemia in infants with erythroblastosis fetalis. *The Am. Gastroent.* 72(3): 277-301 (1979).
- 31.- E. Hey and P. Jones: Coagulation failure in babies with rhesus isoimmunization. *Br. J. of Haematology.* 42: 441-454 (1979).
- 32.- H. H. Ivey, M. D.; H. Sabio, M. D.: Multiple exchange transfusions in the treatment of a newborn with pyruvate kinase deficiency. *Clin. Pediat. (Phila).* 18(12): 756-758 (1972).
- 33.- Jasso L.: *Neonatología Práctica. Segunda Edición: Editorial El Manual Moderno, S. A. (1984).*
- 34.- W. B. Karp, PhD, DMD.: Biochemical alterations in neonatal hyperbilirubinemia and bilirubin encephalopathy: A review. *Pediatrics.* 64(3): 361-366 (1979).
- 35.- M. A. Katz, M. D.; W. P. Kanto, Jr. M. D. and Jeffrey H. Korotkin, M. D.: Recurrence rate of ABO hemolytic disease of the newborn. *Obstet Gynecol.* 59(5): 611-613 (1982).
- 36.- C. A. Kuczmarski; M. O. Bergren, Perkins: Mild hemolytic disease of the newborn due to anti-Jk³. A serologic study of the family's Kidd antigens. *Vox Sang.* 43: 340-344 (1982).
- 37.- P. A. Lacey; C. R. Caskey; D. J. Werner; and J. J. Moulds: Fatal hemolytic disease of a newborn due to anti-D in an Rh-positive D^u variant mother. *Transfusión.* 23: 91-94 (1983).

- 38.- Shun-keung Lee; Kyi-To Tham, Path; King-Pang Cheung; and W. J. Jenkins, Path: Rh^o(D) fraction incompatibility causing hemolytic disease of the newborn. *Am. J. of Clin. Pathol.* 78(1): 95-96 (1982).
- 39.- C. Levene; Y. Rudolphson; and Y. Shechter. A second case of hemolytic disease of the newborn due to anti-Js^a. *Transfusión.* 20(6): 714-715 (1980).
- 40.- Levine R. L. et al.: Bilirubin: Worked out years ago?. *Pediatrics.* 64(3): 380-384 (1979).
- 41.- J. Linares G.: Inmunohematología básica aplicada en el Banco de Sangre. Segunda Edición: Editorial Litotec C. A. (1976).
- 42.- R. A. Margni: Inmunología e Inmunoquímica. Tercera Edición: Editorial Médica Panamericana. (1982).
- 43.- T. Meloni; G. Forteleoni; A. Dore and S. Cutillo: Neonatal hyperbilirrubinaemia in heterozygous glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient females. *Br. J. of Haematology.* 53: 241-246 (1983).
- 44.- T. Meloni; R. Corti; S. Costa; G. Mele; and V. Franca: Alfa-thalassaemia and hyperbilirubinaemia in G6PD deficient newborn. *Arch. Dis. Child.* 55(6): 482-484 (1980).
- 45.- B. M. Mogilner; A. Berrebi; A. Levy and C. Levene: Hemolytic disease of the newborn caused by the rhesus antigen C^w. *Acta Paediatr Scand.* 71: 703-704 (1982).
- 46.- P. L. Mollison; C. A. Johnson and D. M. Prior: Dose-dependent destruction of A₁ cells by anti-A₁. *Vox Sang.* 35: 149-153 (1978).
- 47.- P. L. Mollison: Blood transfusion in clinical medicine. Sexta Edición: Editorial Blackwell Scientific Publications. (1979).

- 48.- J. F. Mornex, M. D.: Distribution of U antigen among West Indians. *Transfusión*. 23(3): 272-273 (1983).
- 49.- R. Montgomery: *Biochemistry: A case-oriented approach*. Tercera Edición: Printed in the United States of America. (1980).
- 50.- A. Muller; J. Gener et M. Garretta. Détection des alloanticorps immuns anti-A et anti-B sur les équipements groupamatic. *Revue Française de Transfusion et d'Immuno-hématologie*. Tomo XXI N^o. 2: 341-348 (1978).
- 51.- C. E. Musclow, M. D.; D. Abbott, C. D.; M. B. ChB; and S. M. Tobin, M. D.: Multiple antibody formation in a primigravida: Anti-D, anti-C, anti-Kp^b. *Obstetrics & Gynecology*. 59(6): Supple. 10S-12S (1982).
- 52.- R. Renuka Nair; J. S. Murty; Mangutha N. Rao; and T. Seetha: ABO incompatibility and neonatal jaundice. *Indian J. Med. Res.* 71: 567-575 (1980).
- 53.- M. Oort; W. Heerspink; D. Roos; R. A. Flavell+ and L. F. Bernini: Haemolytic disease of the newborn and chronic anaemia induced by alfa beta-thalassaemia in a Dutch Family. *Br. J. of Haematology*. 48: 251-262 (1981).
- 54.- M. Orzalesi; F. Gloria-Bottini; P. Lucarelli; N. Lucarini; E. Carapella and E. Bottini: ABO system incompatibility: Evaluation of risk of hyperbilirubinaemia at birth by multivariate discriminant analysis. *Experientia*. 39: 89-91 (1983).
- 55.- P. L. Page: Hemolytic disease of the newborn due to anti-Lan. *Transfusión*. 23(3): 256-257 (1983).

- 56.- J. M. Pollock; J. M. Bowman: Placental transfer of Rh antibody (anti-D IgG) during pregnancy. *Vox Sang.* 43: 327-334 (1982).
- 57.- K. J. Peevy, M. D.; and H. J. Wiseman, M. D.: ABO hemolytic disease of the newborn: Evaluation of management and identification of racial and antigenic factors. *Pediatrics.* 61(3): 475-478 (1978).
- 58.- Qian Mei-lun; He Cui-hua; Jian Mei; Zhang Su-ping and Wang Wen-bin. Amniotic fluid fetal blood group prediction and use in newborn hemolytic disease. *Chinese Medical Journal.* 95(9): 703-705 (1982).
- 59.- E. Quintanar G.; E. García N.; A. García C. y D. Bertely B. Manual de Procedimientos Inmunohematológicos y Administrativos del Banco Central de Sangre del I. M. S. S. (1985).
- 60.- G. Rock; I. Lafreniere; L. Chan and N. McCombie: Plasma exchange in the treatment of hemolytic disease of the newborn. *Transfusión.* 21(5): 546-551 (1981).
- 61.- Rodríguez Moyado, H. y cols. La patología transfusional experiencia en México. *Alteraciones inmunohematológicas. Gaceta Médica Mex.* 101: 663 (1971).
- 62.- E. L. Romano; J. Linares; G. Suárez: Plasma fibrinogen concentration in ABO-hemolytic disease of the newborn. *Int. Archs. Allergy. Appl. Immun.* 67: 74-77 (1982).
- 63.- PH. Rouger & CH. Salmon: A new approach to the thermodynamic study of ABO antibodies. *Immunology.* 37: 547-553 (1979).
- 64.- E. Sadovsky; N. Laufer and Y. Beyth: The role of fetal movements assessment in cases of severe Rh immunized patients. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 58: 313-315 (1979).

- 65.- Schaum. Estadística. Primera Edición. Editorial McGraw-Hill de México, S. A. (1970).
- 66.- H. Schenkel-Brunner; J. P. Cartron & C. Doinel: Localization of blood group A and I antigenic sites on in-side-out and rightside-out human erythrocyte membrane vesicles. *Immunology*. 36: 33-36 (1979).
- 67.- Mark Shulin Cheng: IgG anti-Le^a in cord serum. *Transfusión*. 23(3): 274 (1983).
- 68.- Y. Sivan, M. D.; P. Merlob, M. D.; J. Nutman, M. D.; S. H. Reisner, M. B. Ch. B.: Direct hyperbilirubinemia complicating ABO hemolytic disease of the newborn. *Clinical Pediatrics*. 22(8): 537-538 (1983).
- 69.- K. L. Tan: Glucose-6-phosphate dehydrogenase status and neonatal jaundice. *Arch. of Dis. in Childhood*. 56: 874-877 (1981).
- 70.- A. M. Taylor and G. J. Knighton: A case of severe hemolytic disease of the newborn due to anti-Verweyst (Vw). *Transfusión*. 22: 165-166 (1982).
- 71.- J. S. Thompson; M. W. Thompson: *Genética Médica*. Segunda Edición: Salvat Editores, S. A. (1981).
- 72.- N. W. Tietz: *Química Clínica Moderna*. Primera Edición: Editorial Interamericana. (1972).
- 73.- Toy P. T. et al.: Severity of ABO-hemolytic disease of the newborn. *Acta Paediatr Scand*. 71: 507-508 (1982).
- 74.- M. Uchikawa; Y. Shibata; H. Tohyama; H. Mori; K. Aisaka; M. Nakagawa: A case of hemolytic disease of the newborn due to anti-Di^b antibodies. *Vox Sang*. 42: 91-92 (1982).

- 75.- G. Vaca; B. Ibarra; A. Hernández; N. Olivares; C. Medina; J. Sánchez-Corona; C. Wunsch; B. Godínez; C. Martínez-Basulo y J. M. Cantú: Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and abnormal hemoglobins in mexican newborns with jaundice. *Rev. Invest. Clin. (Méx.)*. 33: 259-261 (1981).
- 76.- Valaes T. et al.: Is kernicterus always the definitive evidence of bilirubin toxicity? *Pediatrics*. 67(6): 940-941 (1981).
- 77.- Martín Vega C.: A new report of haemolytic disease of the newborn due to IgG anti-M. *Sangre*. 25(3): 392-396 (1980).
- 78.- V. Vengelen-Tyler, MT(ASCP)SBB.: The serologic investigation of hemolytic disease of the newborn caused by antibodies other than anti-D. *Am. Association of Blood Banks*. 145-161 (1984).
- 79.- M. M. Wintrobe: *Hematología Clínica. Cuarta Edición*; Editorial Inter-médica. Tomo I y II. (1979).
- 80.- L. K. Wong; L. H. Smith; and H. M. Jensen: Hemolytic disease of the newborn following maternal self-injection of blood. *Transfusion*. 23: 348-349 (1983).
- 81.- Ch. M. Zmijewski: *Immunohematology. Third Edition*. Editorial Appleton Century-Crofts/New York. (1978).
- 82.- G. Zuliani; G. A. Moroni; M. Buscama; G. Baudino; J. Nardini; G. Pardi: La malattia emolitica del neonato da alloanticorpi materni rari. *Ann. Ost. Gin. Med. Penn. C IV*; 42-52 (1983).
- 83.- Datos proporcionados por la Q. F. B. Elisa Quintanar y el Dr. Hector Rodríguez. Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional del I. M. S. S.

Abreviaturas.

84.- B. C. S. C. M. N. I. M. S. S. Banco Central de Sangre del Centro
Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social.