

126  
2 ej.



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

## **CARACTERIZACION DE ANTICUERPOS ANTIERITRO- CITARIOS EN EL SISTEMA ABO EN EL PERIODO PERINATAL**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

**B I O L O G O**

P R E S E N T A N :

MENDOZA FIGUEROA EMILIA EVELIA  
TRUJILLO BLANCAS MARIA NOEMI

**FALLA DE ORIGEN**

MEXICO, D. F.

FEBRERO 1990



## **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.

# I N D I C E

	Páginas
INTRODUCCION	1 - 23
I.- Eritrocito	1 - 6
I.1. Sistema Inmune	2
I.2. Antigenicidad del eritrocito	6
II.- Características generales de los antígenos	8
III.- Características generales de los los anticuerpos de los grupos sanguíneos.	9
IV.- Sistema ABO.	9
V.- Herencia de los antígenos y anticuerpos en el Sistema ABO.	10
VI.- Anticuerpos dentro de los grupos sanguíneos.	11
VII.- Antígenos dentro del Sistema ABO.	14
VIII.- Distribución de los antígenos y anticuerpos en el sistema ABO.	14
IX.- Estudios Realizados.	21
OBJETIVO	24
MATERIAL Y EQUIPO	25
REACTIVOS	25
METODO	26
TECNICAS	26 - 39
Grupo Sanguíneo ABO	29
Aglutininas a 22 C	30
Anticuerpos hemolíticos	31
Inactivación de los anticuerpos aglutinantes (IgM con saliva secretor).	32 - 33
Inactivación de los anticuerpos aglutinantes (IgM por medio de 2 - Mercaptoetanol.	34 - 35

Tipificación del subgrupo A por medio de lectina Anti-A1.	36
Antiglobulina humana directa	37
Eluido por calor en el recién nacido.	38 - 39
RESULTADOS	40 - 42
DISCUSION	43 - 53
CONCLUSIONES	54 - 55
BIBLIOGRAFIA	56 - 57
CUADROS	58 - 70

## I N T R O D U C C I O N

### I.- El ERITROCITO:

En el cuerpo de los humanos adultos hay entre 5 y 6 litros de sangre. Alrededor de un tercio del volúmen de la sangre lo ocupan los eritrocitos, que se hallan suspendidos en el plasma sanguíneo rico en proteínas.

Los eritrocitos humanos normales presenta la forma de discos biconcavos mas bien pequeños (6 a 9  $\mu$ m). No poseen núcleo, mitocondrias, reticulo endoplásmico u otros organelos. Los eritrocitos se forman a partir de células precursoras, llamadas reticulocitos. En este proceso de maduración los reticulocitos pierden sus organelos normales y forman grandes cantidades de hemoglobina.

Las células rojas de la sangre son, por tanto, incompletas, células vestigiales, incapaces de reproducirse y que están destinadas a permanecer solamente unos 120 días en la circulación en los humanos. Su función principal es la de transportar hemoglobina que se disuelve en el citosol originando una disolución muy concentrada que contiene el 34% de hemoglobina (6).

En la sangre hay 500 a 1000 veces más eritrocitos que leucocitos. En promedio, cinco millones por milímetro cúbico.

Se ha observado por microscopia electrónica que existen

algunos microtúbulos en la parte periférica de los eritrocitos de algunas especies, parece que el factor de sosten, más importante en lo que a conservación de la forma se refiere, depende de la constitución molecular particular del complejo coloidal homogéneo que lo llena, esto hace que la célula sea blanda y elástica.

Más de la mitad del eritrocito es agua 60%, el resto son sólidos, entre el 33% del glóbulo rojo es la proteína conjugada llamada hemoglobina (18).

Los glóbulos rojos tienen la capacidad de concentrar hemoglobina en su líquido celular, cada eritrocito está rodeado de una membrana celular la cual impide la salida de material coloidal hacia el plasma.

Los glóbulos rojos derivan de una célula llamada hemocitoblasto, estos se originan a partir de las células madres primordiales localizadas en la médula ósea (18)

## I.1 SISTEMA INMUNE

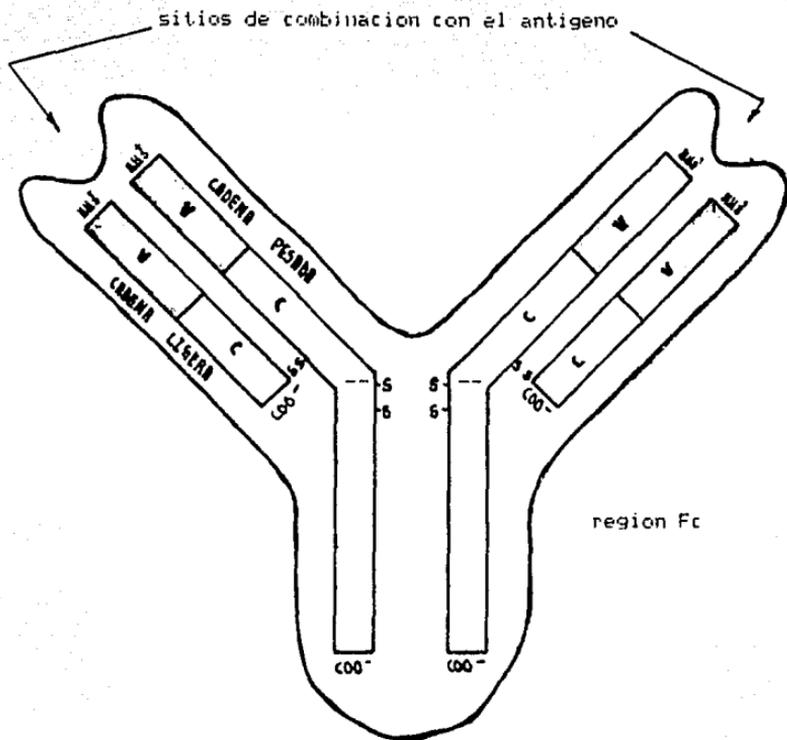
La esencia del sistema inmune es la capacidad para reconocer características de superficie de las macromoléculas que no son constituyentes normales en el organismo. Las proteínas séricas llamadas anticuerpos (Ac) llevan a cabo este reconocimiento específico, del mismo modo que aparentemente lo hacen moléculas similares en la superficie de los linfocitos T. Las entidades

extrañas reconocidas por estos agentes son los denominados antígenos (Ag). La porción de un antígeno a la cual se une un Ac se denomina determinante antigénico. Los Acs reconocen y se unen a los Ags por complementariedad molecular, que permite la existencia de múltiples interacciones no covalentes, un Ag complementario de un Ac se denomina Ag específico para ese Ac.

Un antígeno que provoca una respuesta del sistema inmune se denomina inmunógeno. Las moléculas grandes tales como proteínas extrañas, ácidos nucleicos y carbohidratos son normalmente inmunógenos efectivos. Las moléculas con pesos inferiores a 5000 daltons no lo son.

Los anticuerpos pertenecen a la clase de proteínas denominadas inmunoglobulinas. La unidad básica de la estructura de las inmunoglobulinas es un complejo de cuatro polipéptidos, dos de ellos son de cadenas pesadas (de alto peso molecular) idénticas y las otras dos son cadenas ligeras (de bajo peso molecular) idénticas, unidas entre sí por puentes disulfuro (20) (ver esquema A).

Las porciones Carboxilo-Terminales (C-Terminales) de las cadenas ligeras y pesadas son prácticamente idénticas en los anticuerpos de una misma clase. El eje de las moléculas de inmunoglobulinas formado por las dos mitades C-Terminales de las dos cadenas pesadas se denomina Región Fc, las porciones Amino-Terminales (N-Terminales) de las cadenas ligeras y pesadas



~~Fig. 1-5.~~ Representación bidimensional de una molécula de anticuerpo. Las cadenas pesadas y ligeras se hallan unidas por puentes disulfuro. Los extremos N-terminales (NH<sub>2</sub>) y C-terminales (COO<sup>-</sup>) y las regiones variables (V) y constantes (C) de cada cadena están orientadas como se muestra en la figura. La envuelta alrededor de la molécula representa su forma tridimensional, indicando los sitios de combinación con el antígeno.

difieren en gran medida en la secuencia de aminoácidos entre las distintas inmunoglobulinas de un individuo. Estas regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas se combinan para conformar los puntos de unión de una molécula de anticuerpo.

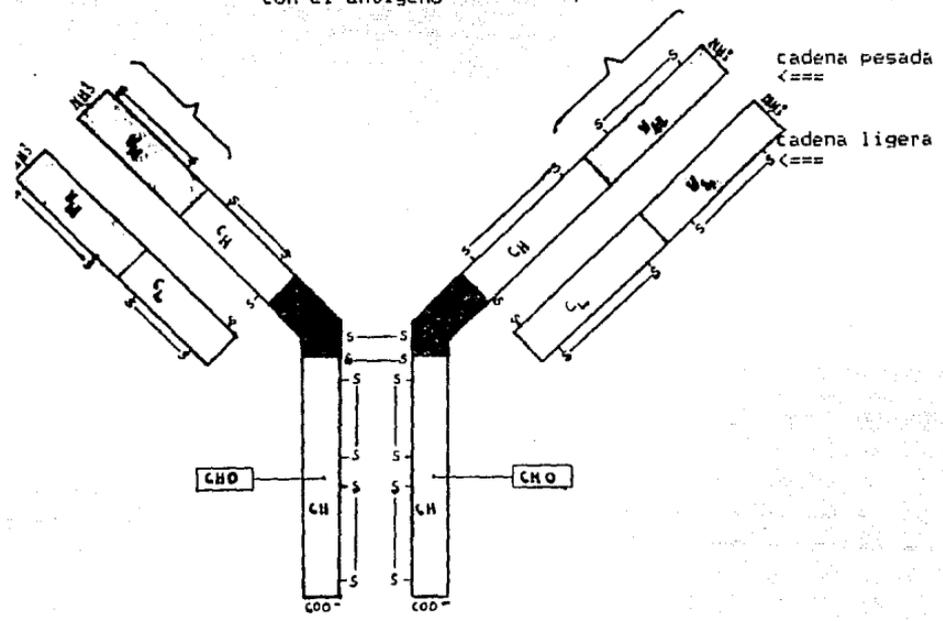
La valencia de un anticuerpo es el número de sitios de unión idénticos para un antígeno dado que posee por molécula. La afinidad del sitio de unión del anticuerpo es una medida de la fuerza de unión, de este al determinante antigénico. El término avidéz se utiliza para describir la fuerza de la red resultante de la interacción de un anticuerpo multivalente con un antígeno que también lo sea.

I.- Las regiones variables y constantes son responsables respectivamente de las funciones de un anticuerpo: La función de reconocimiento y la efectora. Los anticuerpos circulantes poseen una serie de funciones efectoras características implicadas en la eliminación de los antígenos extraños.

II.- La inmunoglobulinas (Ig) presentes en el suero de los mamíferos pueden dividirse en cinco clases, atendiendo a las diferencias que presentan en la secuencia de aminoácidos de las regiones constantes de sus cadenas pesadas. Estas clases denominadas IgM, IgG, IgE, IgD, IgA corresponden a Acs con diferentes funciones efectoras (19).

Basándose en la comparación de la estructura primaria, las

sitios de combinacion con el antígeno



**Fig. 2.** Dibujo esquemático de la molécula IgG humana, que muestra sus principales características estructurales. Las zonas oscuras de las dos cadenas pesadas indican la región isógrafa. Las regiones V se indican por zonas sombreadas. El resto de cada polipeptido es la región C. V y C indican las regiones de secuencia de aminoácidos variable y constante respectivamente, tal y como se explica en el apartado 2.3. Los bucles son el resultado de doce puentes disulfuro intracatenarios en las posiciones que se indican. En la región bisagra hay dos puentes disulfuro intercatenarios. Los grupos carbohidratos unidos a las cadenas pesadas están representados por CHO.

glucolípidos y glucoproteínas (5).

En contraste con las sustancias del grupo sanguíneo que se encuentran en las secreciones, la mayoría de los extractos derivados de las células son glucolípidos, aunque han sido reportado incluso glucoproteínas residuales (6). Los determinantes antigénicos tienen cuatro azúcares principales: D-Galactosa, L-Fucosa, D-Glucosamina y D-Galactosamina (1,7,13,14).

### III.- CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS ANTICUERPOS DE LOS GRUPOS SANGUÍNEOS:

Los Acs de los grupos sanguíneos pueden ser naturales o de origen inmunitario. Son globulinas pero de distinto tamaño molecular por lo cual es un carácter diferencial importante. La mayor parte de los Acs que aglutinan glóbulos rojos en solución salina son Acs naturales. Incluyen el Anti-A, Anti-B, etc., (11).

### IV.- S I S T E M A ABO:

El sistema ABO fue el primero de los sistemas de los grupos sanguíneos descubiertos y continua siendo el más importante en relación a la transfusión sanguínea.

Este sistema fue descubierto en 1909 por Karl Landesteiner quien observó que los glóbulos rojos humanos podían ser clasificados en tres grupos A, B y O, de acuerdo a la presencia de Ags específicos en la membrana eritrocitaria (12).

El cuarto grupo AB de menor frecuencia fue descubierto por

Von Decastello y Sturly.

Landesteiner demostró que los glóbulos rojos contenían por lo menos dos factores designados como aglutinógenos A y B, y así postuló que cada persona podía tener uno de ellos A ó B, o ambos AB o ninguno O, reconoció la presencia de Acs en el suero y señaló la relación recíproca que había entre ellos y los Ags presentes en los glóbulos rojos demostrando que, cuando un determinado antígeno estaba ausente, su Ac correspondiente se encontraba en el suero o plasma. La presencia de los Ags A o B en los glóbulos rojos puede ser determinada mediante pruebas serológicas empleando los antisueros apropiados y de esta manera se pone en evidencia la existencia del gen que controla la presencia del correspondiente Ag (12).

Los Ags ABH del sistema del grupo sanguíneo ABO, no solo existen en los hematíes, sino también en otros tejidos y algunas personas los secretan en forma hidrosolubles en saliva y otros tejidos orgánicos (12).

#### V.- HERENCIA DE LOS ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS EN EL SISTEMA ABO:

La herencia de los antígenos fue propuesta por Bernstei en 1924 (1). El explicó la existencia de un único sistema trialélico con genes ABO que opera en un solo locus genético (15,19,20,22).

Los Ags ABO se heredan como características mendelianas

simples (20). Los genes A y B son codominantes y ambos dominan sobre el gen O, este es recesivo (22). 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<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> con la correspondiente separación de AB en A<sub>1</sub>B, A<sub>2</sub>B. Se conocen otras variantes pero son raras (1, 19).

La sustancia H y su síntesis se encuentra bajo el control de un par alélico H-h heredados independientemente del sistema ABO. El gen H en dosis única o doble origina el carácter H; el raro alelo h cuando esta presente en doble dosis da como resultado la ausencia del carácter H (20). La sustancia H activa 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 frecuencia de grandes cantidades de sustancia H en los individuos del grupo O (19,20).

#### VI.- ANTICUERPOS DENTRO DE LOS GRUPOS SANGUINEOS:

Normalmente los Acs se encuentran en la fracción globulina del suero y corresponden a los siguientes tipos:

Isoanticuerpos: relacionados con Ags de la misma especie.

Anticuerpos Inmunitarios.

Anticuerpos heteroespecíficos: contra los glóbulos rojos de otro individuo de la misma especie.

Anticuerpos heteroespecíficos o autoanticuerpos.

Anticuerpos heterofilos: relacionados con antígenos de otra

especie (11).

Los Acs son inmunoglobulinas; una familia de proteínas cuyos miembros poseen dos importantes características comunes, una de tipo funcional y otra estructural (11).

El aspecto funcional común es la capacidad de combinarse específicamente con un grupo químico particular, el determinante antigénico, mientras que la característica estructural es la combinación de un par de cadenas de polipéptidos relativamente largos, consideradas pesadas (H) y un par de cadenas ligeras (L).

De estas cuatro cadenas dos pares unidas por puentes disulfuro; los Acs contra los Ags de la sangre son como todo, el 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 la conformación estructural o estérica del antígeno adecuada para ser reconocida por el receptor celular como antígeno extraño.

En el sistema ABO se hayan aglutininas naturales regulares lo cual sugiere a la vez la abundante distribución de los antígenos correspondientes en otras formas de vida, lo cual implica que la respuesta inmune a estos Ags se establezca inmediatamente que el individuo se pone en contacto con ellos y la producción de Acs la mantiene durante toda su vida (12).

La membrana de los eritrocitos como todas las membranas

celulares está formada por una bicapa de fosfolípidos que forman la matriz de la membrana, en donde se encuentran distribuidos asimétricamente los componentes como las glucoproteínas y glucolípidos (14).

Los carbohidratos de glucoproteínas y glucolípidos que están localizados en la superficie externa de la membrana de los glóbulos rojos, son los que dan las características antigénicas para que se produzcan los Acs antieritrocitarios (15).

Los Acs contra los Ags de la sangre son el resultado del estímulo antigénico específico y en su producción influyen algunos factores que se han mencionado en general en una respuesta inmune y depende de :

La conformación estructural o estérica del Ag sea la adecuada para ser reconocida por el receptor celular como Ag extraño.

La célula inmunocompetente que presente los receptores genéticamente determinados para captar el antígeno.

La ubicación de los determinantes antigénicos sea la apropiada para dar lugar al estímulo.

Todos los Acs son inmunoglobulinas y son el resultado de la respuesta inmune. Los Acs 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 produce principalmente IgG.

#### VII.- ANTIGENOS DENTRO DEL SISTEMA ABO:

En la membrana de los glóbulos rojos y de otras células se encuentran sustancias antigénicas; ciertos individuos secretores las expulsan como sustancias solubles en la saliva y otros líquidos corporales. Se trata de moléculas grandes con peso cercano a 10 000 daltons y están compuestas de polisacáridos y polipéptidos.

En los antígenos de los grupos sanguíneos son de naturaleza proteínica, casi siempre forman parte integrante de la membrana del glóbulo. El antígeno de un sistema en particular puede ser soluble en líquidos corporales, llamándose hasta entonces sustancias de grupo sanguíneo. La sustancia proteínica antigénica está unida a un carbohidrato (11).

#### VIII.- DISTRIBUCION DE LOS ANTIGENOS Y ANTICUERPOS EN EL SISTEMA ABO.

La producción de los Acs naturales puede ser debido a la inmunización con pequeñas dosis de sustancias inmunogénicas como las bacterias y alimentos entre otros, para la producción de Acs IgM, IgG. Estos determinantes antigénicos están fuertemente relacionados con los Ags de las células rojas, hay diferencias cuantitativas y cualitativas entre los Acs naturales e inmunes (17).

Está demostrado que la edad y el sexo influyen en la

producción de dichos Acs (9). Grunbacher encontró mayores niveles de Acs en mujeres de 5 a 19 años que en hombres de la misma edad, tanto para Anti-A como para Anti-B aglutinantes o hemolíticos (10).

En el sistema ABO pudiera considerarse que todos los sujetos estas inmunizados. Sin embargo, los embarazos y las inyecciones de algunos productos animales incompatibles ABO causan cambios cuantitativos y cualitativos en los Acs Anti-A y Anti-B (15).

Probablemente el hecho más importante acerca de la producción de Acs en el sistema ABO es que el Anti-A, Anti-B inmunes son predominantemente IgM en las personas A o B, pero se encuentran predominantemente y en cantidades considerables la IgG y parcialmente IgA en personas de grupo O (15).

Las hemaglutininas naturales Anti-A y Anti-B están en una misma población individual de Acs, y su presencia esta en función del fenotipo eritrocitario, así los Acs están presentes cuando el Ag específico esta ausente.

Hay dos teorías para explicar la producción de los llamados Acs naturales, están sujetas a discusión. Acordado por Springer y colaboradores, los Acs que ocurren en forma natural son el resultado de la inmunización repetida por la presencia de Aqs en el medio ambiente durante el desarrollo del individuo (Filiti y Wurmser (17)).

Existen algunos individuos que poseen tanto Acs naturales

como naturales (6). En la inmunohematología los Acs inmunes (aloanticuerpos) son producidos por Ags eritrocitarios, plaquetas y leucocitos. Estos Acs pueden ser IgM, IgG o la mezcla (12). En una proporción variable de sueros de varones del grupo O es posible detectar Acs Anti-A/Anti-B de características inmunes, esto sugiere la existencia de una inmunización previa diferente a embarazo o por hemoterapia, para que existan estos cambios inmunológicos pudo ser posible heteroinmunización por sustancias del grupo A o B (2).

En la tabla I, se observa algunas diferencias entre los Acs naturales e inmunes.

Los componentes geográficos, raciales y ecológicos son determinantes en las diferencias en el comportamiento serológico de las diversas fracciones de inmunoglobulinas en el suero (6).

Hay niveles más altos de Anti-A, Anti-B en negros que en blancos, esto probablemente incluye un mayor desarrollo del sistema eritropoyético y de los Ags A y B. Así, el alto nivel de aloanticuerpos y el mayor desarrollo de los Ags 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 (9).

Posenfield y Ohno han demostrado que considerando, el 90% de los individuos son del grupo O y tienen IgG Anti-A y Anti-B; solamente el 34% de los individuos del grupo A o B tienen IgG

TABLA 1

CARACTERISTICAS DE LOS ALDANTICUERPOS DEL SYSTEMA ABO.

	ANTICUERPOS NATURALES	ANTICERPOS IMMUNES
AGLUTINANTES	SI	NO
SENSIBILIZANTES	NO	SI
HEMOLITICOS	+/-	SI
MEDIO DE REACCION	SALINO	PROTEICO
COOMBS	NO	SI
TEMPERATURA OPTIMA	FRIO (4-22 GRADOS C.)	CALIENTE (37 C.)
NEUTRALIZACION CON SUSTANCIA ABH	SI	+/- POCO
NATURALEZA DE LA IMMUNOGLOBULINA	IgM	IgG
NEUTRALIZACION CON 2- MERCAPTO ETANOL	SI	NO
FIJA COMPLEMENTO	SI	SI

Anti-A o Anti-B (5).

Los títulos de Anti-A tienden a ser más altos que los de Anti-B cuando son comparados grupos sanguíneos A y B o cuando son comparados los títulos de dos grupos O. Los títulos de Anti-A tienden a ser más altos en los grupos O que en los B. No existe diferencias significativas entre los títulos de Anti-A y Anti-B de los grupos O y A (15).

En sujetos del grupo O es mucho más común el desarrollo de Anti-A y Anti-B IgG que en los grupos B y A. Las características serológicas de la IgM Anti-A pueden ser estudiadas en el suero al que falta Anti-A IgA e IgG, el Anti-A IgG puede ser analizada en la fracción obtenida en cromatografía de DEAT-celulosa y aquellos Anti-A IgA en el calostro, ya que la IgA es la inmunoglobulina principal (15).

Tovey estudió los Acs ABO aglutinantes de madres del grupo O y Acs detectados en el suero de cordón umbilical de niños compatibles e incompatibles, encontrándose un alto título de Acs ABO en el suero del cordón de ambos niños, concluyendo que el paso de los Acs de la Madre al feto, no depende la absorción de Anti-A, Anti-B, Anti-A,B por los Ays tisulares ABO de la placenta (20).

Kochwa y colaboradores demostraron que el 70% de las madres del grupo O tienen títulos de IgG Anti-A o Anti-B mayores 1:2 y las madres del grupo A o B no lo tienen. El embarazo no parece

ser un estímulo, ya que en niños de madres primigestas pueden ser afectados en comparación con los niños de madres multiparas, no es obvia la sensibilización de la Madre por embarazos incompatibles otras funciones sanguíneas. Esto parece explicar porque las madres del grupo O tienen niños con enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO (5,9).

Las sangre que circula en al Madre y en el feto en condiciones normales se hayan totalmente separadas por la barrera placentaria, pero cuando sobrevienen rupturas de esta delgada membrana, pequeñas cantidades de sangre fetal penetran en la circulación sanguínea materna, ocasionando de esta forma la inmunización a todos los Acs que desconozca la Madre y que el hijo ha heredado del padre (19). Esta es una de las causas más frecuentes del porque el sexo femenino contiene tres veces más Acs irregulares que el sexo masculino (10).

La inmunización materno-fetal es causada por incompatibilidad del grupo sanguíneo de la Madre y el feto. Los isoanticuerpos formados por la Madre, son debidos a estímulos por previos embarazos o transfusiones, o en raras ocasiones por autoanticuerpos (21). Tienen acceso a la circulación fetal cruzando la barrera placentaria para interactuar con los Acs de las células rojas fetales o neonatales causando hemólisis (16, 20).

Se sabe que los Acs esperados contra los eritrocitos

humanos encontrados en los sueros son Anti-A y Anti-B o Anti-A,B, las concentraciones más altas son encontradas en sujetos O, lo que causa el síndrome hemolítico medio a los niños del grupo A o B, Mollison reportó 1 en 150 de todos los nacimientos (15).

Schanfiel notó que la subclase de Ac IgG materno puede ser un factor importante en la severidad de la enfermedad hemolítica del recién nacido ABO (?).

La severidad de la enfermedad hemolítica del recién nacido por el sistema ABO puede variar dependiendo de:

- La cantidad de Acs que cruzan la placenta.
- La subclase del Ac IgG materno.
- La presencia y desarrollo del Ag apropiada a las células rojas.

Los embarazos heteroespecíficos se clasifican en :

- Madre A niño B.
- Madre B niño A.
- Madre O niño A o B.

La enfermedad hemolítica del recién nacido por el ABO ocurre más frecuente en niños de grupo A o B nacidos de madres del grupo O (5,14,15), reportándose diferentes frecuencias como son: 37.9% de la enfermedad hemolítica del recién nacido ABO la presentan en niños del grupo A o B cuando la Madre es del grupo O, el 0.8% cuando la Madre es del grupo A o B y el niño o recién nacido es del grupo B o A respectivamente (15).

Se ha pensado que los títulos de Acs IgG es el resultado de la isoimmunización por cualquier embarazo incompatible, teniendo los fetos incompatibles como de alto riesgo debido al efecto acumulativo de la isoimmunización, aunque no existe una evidencia concreta de que la incompatibilidad ABO incrementa con la disposición al nacimiento, como ha sido observada en la incompatibilidad por Rh (D).. (10).

#### IX. ESTUDIOS REALIZADOS:

Las pruebas prenatales para predecir la enfermedad hemolítica del recién nacida son de poco valor, por lo cual no son realizadas en los hospitales.

Se sabe que los glóbulos rojos se suspenden en solución salina, y se añade un Ac conveniente bajo la forma de suero de otro individuo, o como Ac de un animal inmunizado expofeso (10).

Se produce aglutinación si hay reacción Ag-Ac; el fenómeno se identifica por acumulo de glóbulos rojos. En las pruebas de aglutinación, el Ag se puede llamar aglutinógeno y el Ac aglutinina.

Así pues, para realizar el presente trabajo fué necesaria la realización de las siguientes pruebas:

Para las donadoras y mujeres embarazadas:

- Grupo sanguíneo:

La reacción se basa en el evento inmunológico específico del Ag-AC.

- Aglutininas frías:

Se realiza con el propósito de analizar los títulos de Acs aglutinantes del sistema ABO; Anti-A, Anti-B, Anti-AB.

- Hemolisinas:

En la prueba de la hemolisina, el AC puede reaccionar con los glóbulos rojos y producir la lisis, en lugar de aglutinación. En este caso el AC es una hemolisina y la reacción exige la presencia de complemento que se encuentra en el suero fresco.

- Neutralización de los Acs aglutinantes con saliva del secretor:

Los Acs 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 Acs es IgG o inmunes, es posible demostrar su presencia en el suero de pacientes en los que se sospecha la presencia de isoimmunización materno-fetal por incompatibilidad ABO.

- Neutralización de los Acs aglutinantes IgM por medio del 2-Mercaptoetanol.

El tratamiento de los Acs Anti-A y Anti-B con 2-mercaptoetanol, provoca su inactivación por ruptura de los puentes de disulfuro, principalmente cuando la naturaleza es IgM, ya que los Acs IgG resisten este tratamiento.

Para el recién nacido se realizan los siguientes estudios:

- Grupo sanguíneo

- Coombs directo:

Este procedimiento permite establecer la sensibilización de los glóbulos rojos (adsorción de Acs) que tuvo lugar in vivo.

- Eluido

Se llama elución a la suspensión del Ac adsorbido sobre los glóbulos rojos, transformándolos en variedad libre en un medio de suspensión adecuado. Luego el líquido de elución puede ser estudiado frente a una serie conveniente de glóbulos testigo (11).

## O B J E T I V O

Valorar los anticuerpos antieritrocitarios IgG Anti-A, Anti-B dentro del sistema ABO dirigidos contra los antígenos A o B en la población de mujeres embarazadas con respecto a una población de mujeres donadoras, con el fin de encontrar diferencias entre la técnica del 2-Mercaptoetanol y Neutralización con saliva secretor.

Se espera demostrar la existencia de títulos elevados de anticuerpos Anti-A, Anti-B del tipo IgG en las mujeres embarazadas con respecto a las mujeres donadoras y de esta aportar datos predictivos para el establecimiento de la enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO materno-fetal.

## MATERIALES Y EQUIPO

- Tubos de ensayo pH 12 X 75 y 13 X 100
- Pipetas Pasteur de 9 pulgadas
- Gradillas metálicas
- Bulbos de extracción
- Centrifuga serológica (Serofuge)
- Agitador magnético con imán
- Vasos de precipitado de 250 y 5000 ml
- Aplicadores de madera
- Probetas graduadas de 100 ml
- Pipetas graduadas de 2 y 5 ml
- Matraz aforado de 1000 ml
- Estufa a 37 C
- Hilo cañamo del No.20
- Papel Parafilm
- Jeringas de 5, 10 y 20 ml
- Agujas
- Guantes para cirujano
- Ropa de quirófano
- Bata

## REACTIVOS

- 2- Mercaptoetanol 0.2 M (BioRad)
- Solución Amortiguadora de Fosfatos (pH 7.2)
- Solución de NaCl 0.9%
- Frascos con antisueros Anti-A, Anti-B, Anti-AB, Albúmina bovina (Ortho).
- Suero de Coombs (Ortho).

Panel de células conocidas A1, A2, B, O (IMSS)

### M E T O D O

En el presente trabajo fueron seleccionadas dos poblaciones de mujeres:

- 1.- Población de mujeres donadoras que acudieron al Banco de Sangre del INPer.
- 2.- Población de mujeres embarazadas, las cuales acudieron a concluir su evento obstétrico al INPer.

Las cuales fueron incluidas o excluidas tomando en consideración los siguientes criterios:

#### Población de mujeres donadoras

INCLUSION	EXCLUSION
Peso mínimo de 55 Kg	Serología positiva a:
Edad de 18-60 años	Antígeno de Australia (hepatitis)
Hemoglobina de 12-14 g/dL	Anti VIH (Sida)
Hematocrito 43-47	Hudleson ( <u>Brucela abortus</u> )
Rh positivo	VDRL (sífilis)
Presión arterial	Estado de gravidez (embarazo)
Sistólica 110/120 mmHg	Aplicación de vacunas:
Diastólica 60/90 mmHg	Toxoide tetánica 3 meses

#### Población de mujeres embarazadas

INCLUSION	EXCLUSION
Rh positivo	Inmunización materno-fetal por Rh.
Finalización del evento	Ingesta de medicamentos

obstétrico en el INPer,	daños para su estado gestacional.
Hemoglobina y Hematocrito superior a 10 g/dl y 30% respectivamente.	Otras patologías.

---

Se procedió a realizar la punción venosa del brazo, con una jeringa, tomándose 16 ml de sangre, los cuales fueron colocados en tubos de ensayo de 13 X 100 previamente marcados.

Ya en el laboratorio del Banco de Sangre se procedió a llevar a cabo las técnicas siguientes:

- 1.- Grupo sanguíneo ABO.
- 2.- Aglutininas a 22 C.
- 3.- Acs hemolíticos.
- 4.- Neutralización de Acs aglutinantes (IgM) con Saliva Secretor.
- 5.- Inactivación de los Acs aglutinantes IgM por medio de 2-Mercaptoetanol.

Del grupo de mujeres embarazadas que acudieron al INPer a concluir su evento obstétrico, se seleccionaron aquellas mujeres que cumplieron con los criterios de inclusión.

Para tomar la sangre del recién nacido, se acudió al Área de Tococirugía de INPer. Se obtuvieron 8 ml de sangre de cordón umbilical con la ayuda de una jeringa, fueron entonces depositados en tubos de ensayo conteniendo anticoagulante (EDTA), y marcados previamente con los datos del paciente. Al día

siguiente del parto, se le realizó una punción venosa a la Madre (en el piso de hospitalización) obteniendo una muestra de 10 ml, la cual fue colocada en tubos de ensayo de 13 X 100 marcados previamente.

En el Laboratorio del Banco de Sangre fueron llevadas a cabo las siguientes técnicas tanto al recién nacido como a la Madre:

**M A D R E :**

- 1.- Grupo sanguíneo ABO.
- 2.- Aglutininas a 22 C.
- 3.- Acs Hemolíticos
- 4.- Neutralización de los Acs aglutinantes (IgM) con Saliva Secretor.
- 5.- Inactivación de los Acs aglutinantes (IgM) mediante el 2-Mercaptoetanol.

**R E C I E N N A C I D O :**

- 1.- Grupo sanguíneo.
- 6.- Coombs directo.
- 7.- Eluido.

**GRUPO SANGUINEO A B O:**

**T E C N I C A :**

- Se centrifugó la muestra de sangre de donadoras, embarazadas y recién nacidos a 3000 rpm durante 3 min en una centrifuga (Solvat).

- Se enumeraron y rotularon los tubos de ensayo de 12 X 75.

#### PRUEBA DIRECTA:

- El primer tubo de ensayo contenía una gota de suero hemotipificador Anti-A (Ortho) y una gota de eritrocitos del paciente en estudio (donadoras, embarazadas y recién nacido) suspendidos al 2% en su propio suero.

- El segundo tubo de ensayo contenía una gota de suero hemotipificador Anti-B (Ortho) y una gota de eritrocitos del paciente en estudio (donadoras, embarazadas y recién nacido) suspendidos al 2% en su propio suero.

- El tercer tubo de ensayo contenía una gota de suero hemotipificador Anti-AB (Ortho) y una gota de eritrocitos del paciente en estudio (donadoras, embarazadas y recién nacido) suspendidos al 2% en su propio suero.

- El cuarto tubo de ensayo fué el autotestigo contenía eritrocitos del paciente en estudio (donadoras, embarazadas y recién nacido).

#### PRUEBA INVERSA:

- Los tubos de ensayo marcados como 5, 6, 7 y 8 contenían una gota de eritrocitos conocidos (Panel de células del IMSS A1, A2, B y O) suspendidos al 2% en solución de NaCl 0.9% y dos gotas del paciente en estudio (donadoras, embarazadas y recién nacido).

- Se mezclaron los tubos de ensayo de 12 X 75 del 1 al 8 y se centrifugaron por 30 segundos a 2400 rpm.

- Se reportaron los resultados positivos por cruce según el grado de aglutinación (4+, 3+, 2+, 1+, g) y negativos.

#### AGLUTINACION DE LOS GRUPOS SANGUINEOS ABO.

#### AGLUTININAS A 22 C

#### T E C N I C A :

- Se centrifugaron las muestras de sangre venosa de las donadoras y embarazadas a 3000 rpm., por 3 min. Se separó el suero de los eritrocitos, colocándose en tubos de ensaye de 12 X 75.

- Se centrifugó de nuevo el suero y se decantó (para obtener un suero libre de células).

- En tubos de ensaye de 12 X 75 se hicieron diluciones dobles progresivas del suero del sujeto en estudio (donadoras y embarazadas) en solución salina (10 tubos de 12 X 75, el primer tubo sin diluir, solo contenía el suero puro y los demás tubos contenían suero diluido con solución salina al 0.9%).

- Se montaron dos series de tubos de ensaye de 12 X 75, se adicionó a cada uno de ellos 2 gotas de cada dilución del suero del sujeto en estudio (donadoras y embarazadas), se inició de la dilución más pequeña 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256: 1:512.

- Se adicionó a cada tubo de 12 X 75 de la primera serie una gota de eritrocitos conocidos del panel de células del IMSS A suspendidos al 2% en solución salina.

- Se adicionó a cada tubo de 12 X 75 de la primera serie una gota de eritrocitos conocidos del panel de células del IMSS B suspendidos al 2% en solución salina.

- Se mezclaron el contenido de ambas series de tubos de 12 X 75.

- Se centrifugaron los tubos 12 X 75 conteniendo el suero y eritrocitos.

- Se reportaron los resultados por cruces según el grado de aglutinación y negativo si no hubo aglutinación.

#### ANTICUERPOS HEMOLITICOS

##### T E C N I C A :

- Se centrifugó la muestra de sangre de donadoras y pacientes embarazadas a 3000 rpm durante 3 minutos, separándose el suero de los eritrocitos.

- Se marcaron y rotularon cuatro tubos de 12 X 75 con A, B, O y autotestigo.

- Se adicionó a cada uno de los tubos de ensaye 2 gotas de suero del sujeto en estudio (donadoras y embarazadas), una gota de suero de complemento de conejo (Behringwerke) y a cada uno de los tubos de 12 X 75 2 gotas de eritrocitos conocidos A1, B y O del panel de células del IMSS, y el contenido las propias células suspendidas al 5% en su suero.

- Se incubaron los tubos de ensaye de 12 X 75 por dos horas a 37 C, transcurrida la primera hora se mezcló ligeramente el

contenido de los tubos y la incubación se continuo hasta el término de las dos horas.

- Se reportaron los resultados:

Hemolisis parcial.- Los tubos se ensaye con las células A o B mostraron un ligero grado de hemolisis, comparandolos con el autotestigo.

Hemolisis total.- no se observan eritrocitos suspendidos en el suero problema. Totalmente hemolizados.

Negativos.- sin hemolisis.

#### INACTIVACION DE LOS ANTICUERPOS AGLUTINANTES (IgM) CON SALIVA SECRETOR.

#### T E C N I C A:

- Se centrifugó la muestra de sangre venosa del sujeto en estudio (donadoras y embarazadas) a 3000 rpm durante 3 minutos, separando el suero de los eritrocitos, los cuales se colocaron en tubos de ensaye.

- Se agregó a tres tubos 0.2 ml de suero de donadoras o embarazadas más:

Tubo 1.- 0.2 ml de saliva con substancia A ó B dilución 1:2

Tubo 2.- 0.4 ml de saliva con substancia A ó B dilución 1:3

Tubo 3.- 0.2 ml de saliva con substancia A ó B dilución 1:4

- Se mezcló el contenido de los tubos de ensaye y fué tapado con Parafilm.

- Se incubaron los tubos que contenían el suero de donadoras y embarazadas más la sustancia A ó B por 30 minutos a 22 C en la estufa y se indujo la neutralización de la IgM.

- De los tubos marcados como 1, 2 y 3 se tomaron 4, 6, y 8 gotas respectivamente y se colocaron en otros tubos a los cuales se les agregó una gota de eritrocitos conocidos A1 o B del panel de células del IMSS suspendidos al 2% en solución salina.

- Se mezcló el contenido de los tubos y se centrifugó a 3400 rpm por 30 segundos.

- Después de haber sido centrifugados, los botones celulares fueron resuspendidos con moderada agitación y se observó la reacción contra luz blanca.

- Se tomó como punto de neutralización el primero de los tres tubos de ensaye que contenía (suero-saliva-eritrocitos) que mostró un resultado de aglutinación negativa.

- Se realizaron diluciones dobles progresivas con solución salina (10 tubos para cada serie).

- Se adicionó a cada tubo de la serie I, una gota de eritrocitos A1 del panel del IMSS suspendidas al 2% en solución salina de NaCl al 9% y una gota de eritrocitos B del panel del IMSS, resuspendidas al 2% en solución salina para conformar la serie II.

- Se mezcló el contenido de los tubos y estos se centrifugaron a 3400 rpm durante 30 seg.

- Se reportaron los resultados por cruces según la aglutinación y negativo si esta no se presentó (Salida Rápida).

- Posteriormente se incubaron los tubos una hora a 37 C.

- Se mezclaron y centrifugaron los tubos a 3400 rpm por 30 seg.

- Se lavaron las células donde no se observó reacción con NaCl 0.9% por tres ocasiones, y luego se centrifugó a 3400 rpm por 90 seg por cada lavada, al finalizar la última se decantó completamente el sobrenadante, se secó el remanente sobre una gasa limpia y seca.

- Se le adicionó una gota de suero de Coombs (Ortho).

- Se resuspendió el contenido de los tubos, se centrifugo y reportaron los resultados por aglutinación macroscópica por cruces (positiva) y negativa.

#### INACTIVACION DE LOS ANTICUERPOS AGLUTINANTES (IgM) POR MEDIO DEL 2-MERCAPTOETANOL (2ME).

- Se centrifugó la muestra de sangre venosa de donadoras ó embarazadas a 3000 rpm durante 3 min., en una centrifuga (Solvat), se separó el suero de los eritrocitos y se colocaron en tubos de ensaye de 12 X 75.

- Se preparó una Solución Amortiguadora de Fosfatos (PBS) 0.2 M a pH 7.2.

- Se preparó una solución de 2-Mercaptoetanol 0.2 M en el amortiguador de fosfatos.

- Se colocó en un tubo 0.5 ml de suero de donadoras ó

embarazadas más 0.5 ml de solución 0.2 M de 2-Mercaptoetanol en PBS (tubo 1) y en otro tubo 0.5 ml de suero problema (donadoras y embarazadas) más 0.5 ml de PBS sin 2-ME a pH 7.2.

- Se resuspendió el contenido de los tubos y se taparon con parafilm. Se incubaron a 37 C durante 2 horas en una estufa (Riossa).

- Se fabricaron dos bolsas para diálisis con membrana semipermeable.

- Se vació el contenido de los tubos 1 y 2 en las bolsas de diálisis y se cerraron sometiendo a diálisis contra NaCl 0.9% durante 20 horas.

- Transcurrido el tiempo de diálisis, el contenido de las bolsas se vertió en tubos y se centrifugó a 3400 rpm por 5 min.

- Se decantaron los sueros en tubos limpios.

- Se prepararon diluciones dobles progresivas de los tubos de ensayo de 12 X 75, comenzando con la dilución 1:1 hasta llegar a 1:512.

-Se montaron para cada prueba 3 series de 12 tubos de 12 X 75.

- Se adicionó al tubo correspondiente de cada serie 2 gotas de la dilución respectiva, comenzando con la dilución más alta.

- Se le agregó a los tubos de la primera serie de cada una de las pruebas, una gota de eritrocitos conocidos tipo A del panel de células del IMSS, a la segunda serie células tipo B y a

la tercera células tipo 0 suspendidas en solución salina de NaCl al 2%.

- Se mezclaron y centrifugaron los contenidos de los tubos a 3400 rpm durante 30 seg.

- Se leyeron y reportaron obtenidos de la aglutinación macroscópica por cruces ó los negativos (Salina Rápida).

- Se incubaron los tubos a 37 C por 60 minutos.

- Se centrifugaron los tubos y se reportaron los resultados (Salina a 37 C).

- Se lavaron tres veces más con solución salina de NaCl al 0.9 % los tubos cuyo resultado haya sido negativo, centrifugando a 3400 rpm., por 90 min., durante el último lavado se decantó completamente la solución salina al 0.9% y se secó el remanente con una gasa limpia y seca.

- Se adicionó a cada tubo una gota de suero de Coombs.

- Se centrifugaron los tubos de ensaye a 3400 rpm durante 30 seg.

- Se reportaron los resultados anotando las reacciones de aglutinación positivas y negativas.

#### TIPIFICACION DEL SUBGRUPO A POR MEDIO DE LECTINA Anti-A1

- Se centrifugó la muestra de sangre venosa del donador a 3400 rpm durante 5 min., en una centrifuga (Solvat) y se separó el suero de los eritrocitos, colocándose en tubos de ensaye de 12 X 75.

- El paquete de eritrocitos, se lavó tres ocasiones con solución salina de NaCl 0.9 %, en el último lavado se agitó la muestra.

- El botón celular del donador A se resuspendió en solución salina al 5%.

- Al tubo de ensaye de 12 X 75 se les agregó, una gota de lectina Anti-A1 (Ortho) y una gota de células del donador suspendidas en solución salina al 0.9%.

- Se centrifugó el tubo de 12 X 75 a 3400 rpm durante 30 seg.

- Se leyó y reportaron los resultados, se considero que una muestra del subgrupo A1 cuando mostraron 4+, descartando otras posibilidades.

- Este estudio fué posible llevarlo a cabo por tener disponibles células A1.

#### ANTIGLOBULINA HUMANA DIRECTA (en el recién nacido)

- Se centrifugó la muestra de sangre con anticoagulante del cordón umbilical del recién nacido a 3400 rpm durante 3 min., en una centrifuga (Solvat).

- Se prepararon diluciones dobles progresivas del suero de Coombs y de solución salina al 0.9% (el primer tubo de ensaye de 12X75 contenia suero de Coombs (Ortho) y los restantes 7 tubos de 12 X 75 contenian suero más solución salina 0.9% (dilución 1:1

hasta 1:64).

- Se montaron 5 series de 9 tubos cada una, se repartió a cada uno de los tubos de 12 X 75, 2 gotas de las diluciones correspondientes iniciando por la dilución más alta.

- A cada uno de los tubos de 12 X 75 de las primeras tres series se les agregó una gota de eritrocitos del recién nacido previamente lavados y resuspendidos en solución salina al 2%.

- A la serie cuatro, se le adicionó una gota de eritrocitos sensibilizados con IgG (Ortho).

- Se centrifugaron todos los tubos de 12 X 75 a 3400 rpm., durante 30 seg.

- Se observaron y reportaron los resultados por el grado de aglutinación por cruces y negativos.

#### ELUIDO POR CALOR EN EL RECIEN NACIDO.

- Se centrifugó la muestra de sangre obtenida del cordón umbilical con anticoagulante a 3400 rpm., durante 3 min., en una centrifuga (Solvat).

- Se separó el suero de los eritrocitos del recién nacido y se colocaron en tubos de ensaye de 12 X 75.

- Al botón de los glóbulos rojos del recién nacido, se lavo tres veces con solución salina al 0.9%, al final de estos se eliminó todo el sobrenadante.

- Se le agregó igual volumen de suero Anti-A al paquete de células del recién nacido.

- Se mezcló e incubó una hora a 37 C en tubos de 12 X 75.

- Se centrifugó el tubo de ensayo de 12 X 75 a 3400 rpm., durante 90 min., se descartó el sobrenadante.

- En tubos de 12 X 75 se lavaron las células por seis ocasiones con solución salina al 0.9%, se descartó el sobrenadante y se conservó una alícuota de 1 ml de células.

- Se les agregó a las células igual volumen de solución salina.

- Se mezcló el contenido de los tubos de 12 X 75, incubándose a 56 C durante 10 min., en una estufa (Riossa), agitándose el tubo cada minuto.

- Se centrifugó los tubos de 12 X 75 a 3400 rpm por 45 min., y se separó el eluato de color rosado en un tubo limpio de 12 X 75.

- Se preparó la suspensión de eritrocitos conocidos A1 y O del panel del IMSS al 2% en solución salina.

- Se rotularon los tubos de 12 X 75 A1 y O y a los cuales se les adicionó a cada uno, dos gotas de eluato y una gota de suspensión de los eritrocitos conocidos A1 y O del panel. Se mezclaron e incubaron los tubos 12 X 75 reportándose los resultados por cruces positivo o negativo.

## P E S U L T A D O S

En el presente estudio se manejaron dos poblaciones de mujeres: Embarazadas y Donadoras.

En el Cuadro 1, se presentan el número de casos para ambas poblaciones.

De la población de donadoras se obtuvo un total de 26 muestras de las cuales 19 fueron del grupo O, 5 del grupo A, 1 del grupo B y 1 del grupo AB.

De la población de embarazadas se obtuvieron 15 muestras del grupo O, 7 del grupo A, 1 del grupo B y 2 del grupo AB.

En el Cuadro 2, se muestra el puntaje para las diferentes técnicas empleadas; aglutininas, neutralización con saliva y con 2-Mercaptoetanol en las mujeres donadoras, observando los diferentes valores para Anti-A, Anti-B según sea el grupo o caso.

En el Cuadro 3, se presenta la comparación de puntajes obtenidos para la metodología de aglutinación en las mujeres embarazadas con respecto al grupo de las donadoras. Además se puede observar los casos en los cuales, se encontraron Acs hemolíticos para ambas poblaciones. La población de mujeres embarazadas se dividió en los casos compatibles e incompatibles según el grupo sanguíneo de la Madre con su recién nacido.

En el Cuadro 4, se muestran los puntajes obtenidos mediante las técnicas de saliva y de 2-ME para las dos poblaciones, donde se obtuvieron valores tanto para Anti-A como para Anti-B de los distintos grupos sanguíneos.

En el grupo de las embarazadas se muestran el número de casos compatibles con su recién nacido notando los puntajes obtenidos para cada caso.

En el Cuadro 5, se presentan los casos en los que la intensidad de reacción de los Acs aglutinantes y sensibilizantes, tanto para Anti-A como para Anti-B, obtenidos a partir de las técnicas de: aglutininas, saliva, 2-ME, Coombs directo y eluido, practicadas en los recién nacidos O+ con Madres O+. Comparando los resultados, se puede observar que la técnica del eluido resultó negativa para todos los casos.

En el Cuadro 6, se muestra la intensidad de reacción de los Acs y sensibilizantes Anti-A y Anti-B obtenidos de los ensayos de: aglutininas, saliva, 2-ME, eluido y Coombs para los recién nacidos O+ de Madres A+, Madres A+ con recién nacidos A+ y Madres AB con recién nacidos B+.

En el Cuadro 7 se presenta la comparación de las mujeres embarazadas compatibles e incompatibles, observándose que la mayor incidencia de compatibilidad se presentó en las Madres O+/ recién nacido O+, continuando en incidencia: Madres A+ con recién nacido O+, Madres AB+ con recién nacido B+ y la menor incidencia

fué en Madres A+ con recién nacidos A+ del cual solo se encontró un solo caso.

En los casos incompatibles, se observó que la mayor incidencia fué para las Madres del grupo O+ con recién nacido A+, y de menor incidencia O+ con recién nacido B+, Madres A+ con su recién nacido B+ y Madres B+ con su recién nacido AB+.

En el Cuadro 8, se hace la comparación de los promedios y la desviación observada ( $X \pm D.E.$ ) para ambas poblaciones. Las mujeres embarazadas en este caso son compatibles con su recién nacido, dicha valoración se realizó con base en la técnica del 2-ME.

En el Cuadro 9, se presentan los casos de incompatibilidad en relación a la intensidad de reacción de los Acs aglutinantes y sensibilizantes para las Madres y la técnica de Combs y eluido para el recién nacido, en este Cuadro se observa que la técnica del eluido resultó negativa para la mayoría de los casos.

En el Cuadro 10, se muestra el intervalo, promedio y desviación estandar de los casos de incompatibilidad del ABO para las técnicas de aglutininas y del 2-ME.

En el Cuadro 11, se presentan el promedio y la desviación estandar en el grupo de las embarazadas compatibles y incompatibles con su recién nacido con base en la técnica del 2-ME.

En el Cuadro 12 se realizó la conversión de los grados de aglutinación o puntaje que se lleva a cabo en el Banco de Sangre, utilizando este tipo de conversión para todas las técnicas utilizadas en la realización de este estudio.

## D I S C U S I O N

La disparidad antigénica entre la Madre y el producto hace posible la isoimmunización cuando los antígenos fetales en forma de moléculas o acarreados en células, pasan a la circulación materna en cantidades inmunogénicas, y los anticuerpos que se producen son transportados por la placenta que por IgG pueden lesionar las membranas de las células fetales rojas que poseen los antígenos originales, dando como resultado hemólisis, leucopenia, trombocitopenia y otras lesiones celulares.

Con mucho la patología más frecuente la condicionan las isoimmunizaciones por los grupos sanguíneos de los sistemas Rh y ABO. En estos casos, el paso de eritrocitos fetales durante el trabajo de parto provee el estímulo inmunogénico suficiente para provocar la producción de Acs maternos que van a lesionar a los eritrocitos de los productos de embarazos posteriores, con el subsecuente desarrollo de anemia, anoxia anémica que puede llegar a producir Hydrops fetalis y en la etapa neonatal hiperbilirrubinemia a expensas de la fracción indirecta, que puede terminar en la lesión de los núcleos grises centrales por depósitos de la bilirrubina no conjugada (Kernicterus).

Algunos autores refieren la circunstancia de que los antígenos del sistema Rh induzcan la producción de Acs de la clase IgG y en cambio los antígenos del ABO generen IgM (circunstancia en la cual mediante el presente trabajo se pudo demostrar títulos de IgG a partir del sistema ABO en la incompatibilidad materno-fetal por ABO). Estos autores explican la diferencia en la frecuencia de isoimmunización con expresión clínica en ambas condiciones de incompatibilidad tanto por ABO como por Rh.

Los antígenos de histocompatibilidad (HLA) han sido involucrados en la génesis de la trombocitopenia del recién nacido con base en la isoimmunización materna por productos. mediante el sistema Rh, se genera la producción de los Acs de la clase IgG que van a destruir las plaquetas del feto y del recién nacido (apartado que no fué contemplado dentro de este trabajo).

En el campo de las IgG (Ig) la disparidad en los marcadores genéticos de estas o grupos Gm han sido base para isoimmunización materno-fetal que pudiera ser equivalente al fenómeno denominado supresión alotípica, en la cual los Acs contra inmunoglobulinas cuando se administran en la etapa fetal o neonatal producen una hipogammaglobulinemia transitoria.

La existencia de antígenos fetales de histocompatibilidad diferentes a los antígenos dan al concepto la categoría de aloinjerto. Una interrogante fundamental en la inmunología es:

Porqué la mujer embarazada no rechaza al producto como lo hace con todos los injertos?. El periodo gestacional de nueve meses en la especie humana, no deja aparentemente huella de sensibilización en los embarazos subsecuentes, y estos no revelan el efecto de las experiencias inmunológicas (embarazos previos).

Más aún, los llamados embarazos adoptivos, en los que se deposita el huevo en las trompas de una hembra pseudogestante muestran que es posible llevar al término un embarazo ante diferencias de histocompatibilidad mayores que las existentes en la raza con alta endogamia.

La explicación más sencilla, explica el concepto enclaustrado en un santuario inmunológico aislado de la gestante, sin intercambio de material inmunogénico y al abrigo de toda operación tendiente a su rechazo. La observación de embarazos extrauterinos que llegan al termino y en los interrumpidos como el resultados de accidentes vasculares (roturas y torsiones) parainmunológicos, así como la desmotración de transferencias proteicas, celulares y de isoimmunización materno-fetales, y aún el hallazgo de trofoblasto que aparecen como émbolos en la circulación pulmonar al termino del embarazo, hacen posible explicar la ausencia de embarazo como resultado de un enclaustramiento fetal.

La supuesta madurez antigénica del feto, no es aceptable, ya que la substancias de los grupos sanguíneos y los antígenos de histocompatibilidad aparecen desde la etapa embrionaria.

La competencia inmunológica de la embarazada, no sufre mengua durante la etapa gestacional y es posible realizar diversas inmunizaciones en la segunda mitad de la gestación y los niveles de antitoxina son suficiente para conferir protección al neonato.

La placenta hemocorial de la especie humana, posee mecanismos capaces de transportar proteínas en ambas direcciones lo que contribuye a configurar un perfil protéico plasmático sui generis en el recién nacido consiste en:

- Niveles de IgG iguales o un poco mayores que los presentes en la circulación materna. Menos del 1% de esas IgG son producidas por el feto.

- La transferencia de IgG se inicia desde la etapa embrionaria, pero adopta un curso exponencial positivo, entre las semanas veinte y cuarenta, y al término de la gestación se alcanza un equilibrio como resultado del flujo bidireccional de la IgG.

- Ausencia de IgM, IgE, IgA y IgD, aunque hay síntesis fetal de algunas de estas, como fué posible demostrar la presencia de IgM mediante las técnicas utilizadas en el presente estudio. El resto de las IgG producidas son en cantidades muy pequeñas y no alcanzan a descubrirse por las técnicas analíticas disponibles en la actualidad.

- No hay transporte de albúmina, transferrina, orosomucoide, macroglobulinas y de fibrinógeno cuyo origen es fetal en su totalidad.

- Los componentes del complemento no son transferidos y puede haber hipocomplementemias del recién nacido, cuya Madre muestra la actividad correspondiente a los heterocigotos: 50% de los normales.

- La transferencia de IgG se combina con limitación drástica de la biosíntesis de IgG; el resultado es una disminución de los niveles séricos de IgG durante las primeras 6-7 semanas de vida, a partir del cual se inicia una elevación progresiva hasta los 10-12 años de edad cuando se alcanzan los niveles de vida adulta.

Partiendo del análisis de cada uno de los Cuadros, se obtuvo lo siguiente:

En el Cuadro 1 se presenta la incidencia de los grupos sanguíneos de las poblaciones trabajadas, se puede observar que el grupo sanguíneo de mayor prevalencia fue el grupo sanguíneo O en ambas poblaciones ( Población control: donadoras no embarazadas y Población problema: embarazadas), con lo que se pudo corroborar los estudios realizados al respecto.

Se sabe que la producción de Acs en el sistema ABO; Anti-A y Anti-B inmunes, son predominantemente de la clase IgM, en las personas de grupo sanguíneo A ó B, pero se encuentran en

cantidades considerables títulos de inmunoglobulina tipo IgG en personas del grupo O.

El grupo sanguíneo O es el único del sistema ABO que presenta tanto Anti-A como Anti-B. El grupo sanguíneo A presenta únicamente Anti-B, el grupo sanguíneo B solo presenta Anti-A y el grupo AB no presenta ningún tipo de anticuerpo A ó B.

En el Cuadro 2 se observan los puntajes obtenidos para cada uno de los grupos sanguíneos en ambas poblaciones estudiadas, mediante las técnicas de aglutininas, saliva y 2-Mercaptoetanol, así como los Acs hemolíticos. El Ac actúa como una hemolisina dando una reacción hemolítica como se pudo observar en el Cuadro 3, esto quiere decir que los casos que presentan positividad para este tipo de reacción son capaces de producir lisis eritrocitaria en diferente grado dando por resultado o expresión clínica diferentes grados de anemias hemolíticas isoinmunes.

En el Cuadro 4, se observan los puntajes para las técnicas de saliva y 2-ME para las poblaciones en estudio. Esto está demostrado por cada Kochwa y col, que el 70% de las Madres del grupo O, presentan títulos de IgG Anti-A ó Anti-B mayores de 1:2.

Es por esto que la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) por incompatibilidad ABO tiene mayor incidencia en las Madres del grupo O que en los otros grupos analizados.

En el Cuadro 5, se observa que con la técnica de aglutininas los puntajes son mucho mayores que los obtenidos por 2-ME y saliva, esto pudiera ser debido a que la técnica de aglutininas, se están cuantificando ambos tipos de inmunoglobulinas tanto IgG como IgM. Mientras que para el ensayo con 2-ME únicamente se cuantifican títulos de IgG, ya que el 2-ME tiene la capacidad de romper los enlaces disulfuro de la IgM y con ello inactivándolas.

En sujetos del grupo O es más frecuente el desarrollo de Anti-A y Anti-B del tipo IgG que en los grupos sanguíneos A y B. Las características serológicas de la IgM Anti-A pueden estudiarse en los sueros a los que les falte Anti-A del tipo IgG e IgA, el Anti-A IgG puede estudiarse en la fracción obtenida en cromatografía de DEAT celulosa y aquellos Anti-A del tipo IgA en el calostro es la Ig principal.

Otro dato importante, es el no observar datos positivos para la técnica de eluido llevada a cabo en el recién nacido, lo que decir que estos recién nacidos no tienen Acs de la Madre pegados en la membrana de sus eritrocitos, por lo que existiría riesgo de enfermedad hemolítica por incompatibilidad ABO.

Al igual que en el Cuadro anterior la técnica del eluido, no da valores positivos en este Cuadro 6. Esta representado por las Madres del grupo A Rh+ compatibles con su recién nacido O Rh+, además Madres del grupo A Rh+ con su recién nacido A Rh+ y Madres

del grupo AB con recién nacidos del grupo B Rh+, observándose los puntajes para ambas técnicas: saliva y 2-ME en los casos donde las Madres del grupo A se puede observar que no hay reacción de aglutinación para Anti-A, esto se debe a que el grupo sanguíneo A, únicamente presenta Anti-B. En el caso AB que no hubo aglutinación para Anti-A y Anti-B, esto es debido a que el grupo sanguíneo AB carece de ambos.

El Cuadro 7 esquematiza la población de embarazadas separando los casos que son compatibles e incompatibles, observando que la mayor incidencia en grupo está dado por el sanguíneo O, se ha visto que los componentes geográficos, raciales y ecológicos, son determinantes en el comportamiento de los grupos sanguíneos. Encontrándose en México una mayor incidencia del grupo O con respecto a los demás grupos sanguíneos.

En el Cuadro 8 se representa los casos compatibles comparándolos con la población de donadoras los casos de incompatibilidad que representarían la mayor importancia en este estudio.

Se observa en el cuadro 9, los casos de incompatibilidad dado por los siguientes casos: Madre O+ con su recién nacido A+, Madre O+ con recién nacido B+, Madre A+ con recién nacido B+ y Madre B+ con su recién nacido AB+.

Alrededor del 13% de los casos de enfermedad hemolítica del recién nacido por el sistema ABO, tienen cierta agresividad inmunohematológica, se puede observar que en una población mayor los casos de EHRN por ABO en un 95% de los casos son Madres del grupo O con recién nacidos A ó B. Esto parece confirmar la diferente respuesta inmunológica del grupo O con los del grupo A ó B.

En este estudio de encontró:

De las poblaciones estudiadas existe una mayor incidencia de Madres del grupo O para tener embarazos incompatibles, un dato importante en este cuadro es la aglutinación que presentan los casos incompatibles en la técnica del eluido. Esto nos refuerza una mayor probabilidad de enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO, esto quiere decir que los recién nacidos presentan Acs en la membrana de sus eritrocitos.

En el Cuadro 11 esta representado con la población de embarazadas que son compatibles e incompatibles con su recién nacido con base en la técnica del 2-ME.

En este trabajo se pudo obtener lo siguiente:

Dentro del sistema ABO la probabilidad de diagnóstico para determinar la enfermedad hemolítica del recién nacido, resulta inadecuada, ya que se comprobó que aún con el empleo de ambas técnicas para inhibir las propiedades aglutinantes de la IgM, y pretendiendo demostrar la ventaja del 2-ME sobre la técnica de saliva para la búsqueda de IgG en suero de Madres compatibles e

incompatibles con su recién nacido con respecto al grupo control (no embarazadas).

Al hacer las comparaciones entre ambas poblaciones con el fin de encontrar un aumento en los títulos de IgG tanto en las mujeres embarazadas con respecto a las donadoras, solo se encontró diferencia en los casos de incompatibilidad materno-fetal. Ya que se pensaba que durante el embarazo estos títulos de IgG se elevaban y esto de alguno diera pauta para poder predecir los casos que presentarían EHRN por incompatibilidad ABO materno-fetal.

Para hacer el análisis estadístico la prueba de t de Student, obteniéndose los resultados siguientes:

Se realizó la comparación de Madres del grupo sanguíneo O+ con el grupo de donadoras O+ obteniéndose un valor de  $p=0.6 > p < p=0.7$ ) con la técnica del 2-ME para Anti-A, obteniéndose los mismos valores de significancia para los valores de Anti-B. Mediante esta comparación estadística se comprueba que no existe diferencia significativa entre ambas poblaciones estudiadas, lo que significa que existe un 60% de probabilidad de que se comporten inmunológicamente igual o semejante.

Para la técnica de saliva se obtuvo un valor para Anti-A de  $p=0.5 > p < p=0.6$ , mientras que para Anti-B fué de  $p=0.6 > p < p=0.7$  respectivamente, al igual que la técnica anterior no se presentaron diferencias significativas entre estas poblaciones

estudiadas desde el punto de vista inmunológico.

Para los casos estudiados de Madres A+ con recién nacidos O+ comparándolos contra donadoras del grupo A+ se obtuvo un valor de  $p=0.3$  para Anti B, este valor tan pequeño no pudiera deberse a que el grupo sanguíneo de la Madre es diferente al del recién nacido, pero ambos son compatibles. Este valor fué obtenido para el 2-ME, mientras que para la saliva el valor fué  $p=0.9 > p < 1$ . Esto se puede interpretar como que ambas poblaciones se comportan de manera similar, por lo que los títulos de IgG tienden a ser semejantes.

Los casos incompatibles están representados por las Madres del grupo sanguíneo O+ con recién nacidos A+ contra donadoras del grupo O+. Para el 2-ME para Anti-A se obtuvo un valor de  $p=0.001 > p < 0.01$  y para Anti-B el valor fué de  $p=0.001$ . Estos valores nos indican que hubo diferencias significativas entre ambas poblaciones con respecto a los valores de IgG tanto para Anti-A como para Anti-B. Mientras que con la técnica de saliva el valor de  $p=0.9$  y  $P=1$  para Anti-A, y para Anti-B  $p=0.7$  y  $p=0.8$ .

Se pudo comprobar estadísticamente mediante la t de Student que la técnica de saliva resultó inadecuada para la caracterización de Acs antieritrocitarios: Anti-A, Anti-B, ya que la diferencia es por demás significativa en los casos de incompatibilidad materno-fetal, pues no se obtienen valores que refieran diferencias significativas entre las poblaciones analizadas en este último caso.

### C O N C L U S I O N E S

- Se encontró que existe una mayor probabilidad de embarazos incompatibles en Madres O+ con hijos A+ ó B+, siendo de menor incidencia los grupos el A y B.

- El empleo de las técnicas de la saliva y 2-Mercaptoetanol resultó inadecuado para la predicción de la enfermedad hemolítica del recién nacido, ya que solo tienen validez en los embarazos heteroespecíficos.

- La comparación de las técnicas de saliva y 2-ME relacionando las poblaciones de embarazadas con respecto al grupo control y basándonos en el método estadístico utilizado se comprobó que no existe una diferencia significativa entre ambas poblaciones, ya que se comportan de una manera similar.

- El embarazo no parece ser un estímulo para la elevación de la IgG, pero en casos incompatibles se demostró que existe una elevación de esta inmunoglobulina.

- Existiendo incompatibilidad materno-fetal se pudo comprobar que la técnica del 2-ME, si existen diferencias significativas entre la población de mujeres embarazadas incompatibles en relación a las donadoras, demostrando que los niveles de IgG son diferentes entre ambas poblaciones.

- En embarazos heteroespecificos la técnica de saliva da valores similares entre ambas poblaciones, con esto demuestra el valor que tendría la utilización del 2-ME.

- Con el empleo de ambas técnicas, no es posible predecir la enfermedad hemolítica del recién nacido o tener parámetros predictivos, ya que es de importancia tener al recién nacido y existir embarazo heteroespecifico.

- Prenatalmente no es posible la predicción de la enfermedad hemolítica del recién nacido, todos los estudios se hacen postnatalmente.

- La técnica del eluido es de gran importancia, y como posible prueba de laboratorio en el diagnóstico de la enfermedad hemolítica del recién nacido.

CUADRO 1.

GRUPO SANGUINEO A B O DE MUJERES DONADORAS Y EMBARAZADAS

DONADORAS		EMBARAZADAS		
No. Caso	Gpo. donadora	No. de caso	Gpo. madre	R.N
1	O+	1	O+	O+
2	O+	2	O+	O+
3	O+	3	O+	B+
4	O+	4	O+	O+
5	O+	5	O+	A+
6	O+	6	O+	A+
7	O+	7	O+	O+
8	O+	8	O+	O+
9	O+	9	O+	O+
10	O+	10	O+	O+
11	O+	11	O+	O+
12	O+	12	O+	A+
13	O+	13	O+	O+
14	O+	14	O+	O+
15	O+	15	O+	O+
16	O+	16	A+	O+
17	O+	17	A+	A+
18	O+	18	A+	O+
19	O+	19	A+	O+
20	A+	20	A+	O+
21	A+	21	A+	O+
22	A+	22	A+	B+
23	A+	23	B+	AB+
24	A+	24	AB+	B+
25	B+	25	AB+	B+
26	AB+			

CUADRO 2. PUNTAJE DE AGLUTININAS, SALIVA Y 2-MERCAPTOETANOL DEL GRUPO DE DONADORAS.

Cpo. O+	Anti - A			Anti - B		
	Aglut	saliva	2-ME	Aglut	saliva	2-ME
1	95	55	44	63	7	47
2	59	1	0	71	30	0
3	83	47	37	76	14	13
4	81	7	12	69	23	36
5	71	1	25	71	6	5
6	58	2	12	47	2	4
7	105	11	25	64	6	18
8	70	0	6	71	6	14
9	47	14	13	71	10	24
10	71	15	36	93	4	34
11	71	33	23	95	28	13
12	72	0	23	48	0	24
13	47	25	13	48	0	0
14	36	6	23	43	5	14
15	43	1	6	93	0	0
16	71	13	24	59	23	14
17	110	7	14	50	0	6
18	86	0	11	67	0	6
19	50	14	14	49	13	5
Cpo A+						
20	0	0	0	88	0	0
21	0	0	0	59	24	14
22	0	0	0	47	0	0
23	0	0	0	64	14	14
24	0	0	0	71	6	6
Cpo B+						
25	69	23	0	0	0	0
Cpo AB+						
26						

CUADRO 3.

PUNTAJE DE AGLUTININAS A 22 C Y ANTICUERPOS  
HEMOLITICOS DE DONADORAS Y MUJERES EMBARAZADAS

No. de caso	Aglu.		Ac Hemo.	No. de caso	Aglu		Ac Hemo
	Anti A	Anti B			Anti A	Anti B	
1	95	63	si	1	81	95	si
2	59	71	si	2	76	47	si
3	83	76	si	4	59	50	si
4	81	69	si	7	59	57	no
5	71	71	si	8	83	85	no
6	58	47	si	9	71	72	si
7	105	69	no	10	72	65	no
8	70	71	si	11	71	58	no
9	47	71	no	13	76	56	si
10	71	93	no	14	72	72	no
11	71	95	no	15	47	37	no
12	72	48	no	16	0	114	si
13	47	48	si	17	0	59	si
14	36	43	si	18	0	37	si
15	43	93	si	19	0	61	si
16	71	59	si	20	0	47	si
17	110	50	no	21	0	72	si
18	86	67	no	24	0	0	no
19	50	49	no	25	0	0	no
<b>Embarazadas incompatibles</b>							
20	0	88	si	5	59	28	si
21	0	59	si	6	59	32	si
22	0	47	si	12	116	75	no
23	0	71	si	3	86	96	si
24	0	71	si	22	0	48	no
25	69	0	si	23	49	0	no
26	0	0	no				

CUADRO 4b. PUNTAJE DE SALIVA Y 2-MERCAPTOETANOL (ME)  
DE MUJERES DONADORAS Y EMBARAZADAS.

Caso	Anti A		Anti-B	
	Embarazadas	O Recien Nacido O	Embarazadas	
	Saliva	2-ME	Saliva	2-ME
1	0	25	5	35
2	7	25	0	18
4	0	6	0	0
7	0	35	0	33
8	6	35	0	35
9	0	47	7	36
10	6	14	1	15
11	0	23	5	18
13	11	35	19	14
14	0	14	0	6
15	0	38	2	33
Madres A Recien nacido O				
16	0	0	0	0
18	0	0	11	31
19	0	0	0	35
20	0	0	0	24
21	0	0	5	45
Madres A Recien nacido A				
17	0	0	0	0
Madres A Recien nacido B				
24	0	0	0	0
25	0	0	0	0
Madres AB Recien nacido B				
5	23	14	6	41
6	0	0	8	21
12	6	24	5	35
Madre A Recien nacido O				
22	0	0	0	27
Madre B Recien nacido AB				
23	5	24	0	0

CUADRO 4a. PUNTAJE DE SALIVA Y 2-MERCAPTOETANOL DE MUJERES DONADORAS Y EMBARAZADAS.

Caso	Saliva		2-Mercaptoetanol	
	Anti-A	Anti-B	Anti-A	Anti-B
1	55	7	44	47
2	1	30	0	0
3	47	14	37	13
4	7	23	12	36
5	1	6	25	5
6	2	2	12	4
7	11	6	25	18
8	0	6	6	14
9	14	10	13	24
10	15	4	36	35
11	33	28	23	13
12	0	0	23	24
13	25	0	13	6
14	6	5	23	14
15	1	0	6	0
16	13	23	24	14
17	7	0	14	6
18	0	0	11	6
19	14	13	14	5
Grupo A <sup>+</sup>				
20	0	0	0	0
21	0	24	0	14
22	0	0	0	0
23	0	14	0	14
24	0	6	0	6
Grupo B <sup>+</sup>				
25	23	0	0	0
26	-	-	-	-

CUADRO 5. INTENSIDAD DE REACCION DE ANTICUERPOS  
AGLUTINANTES Y SENSIBILIZANTES MEDIANTE  
LA TECNICA DE Coombs DE MADRES O Rh+ CON  
RECEN NACIDO CON O Rh+.

Caso	Anti-A			Anti-B			Eluido		
	Aglut.	Saliva	2-ME	Aglut	Saliva	2-ME	Aglut	Saliva	2-ME
1	81	0	25	95	5	35	0	-	-
2	76	7	25	47	0	18	0	-	-
4	59	0	6	50	0	0	0	9	-
7	59	6	35	57	0	33	0	-	-
8	83	6	35	85	0	35	0	-	-
9	71	0	47	72	7	36	0	-	-
10	72	6	14	65	1	15	0	-	-
11	71	0	23	58	5	18	0	-	-
13	76	11	35	56	19	14	0	-	-
14	72	0	14	72	0	-	6	0	-
15	47	0	38	37	2	33	3	-	-

Aglu.= Aglutinantes

2-ME= 2-Mercaptoetanol

CUADRO 6. INTENSIDAD DE ANTICUERPOS AGLUTINANTES Y SENSIBILIZANTES EN MADRES CON DIVERSOS TIPOS SANGUINEOS.

Madres A con Recien nacido O										
Caso	Anti-A			Anti-B			Eluido			
	Aglut	Sal	2-ME	Aglut	Sal	2-ME	Coombs	Anti-A	Anti-B	
16	0	0	0	114	0	0	0	--	--	
18	0	0	0	37	11	31	0	--	--	
19	0	0	0	61	0	35	0	--	--	
20	0	0	0	47	0	24	0	--	--	
21	0	0	0	72	5	45	0	--	--	
Madres A con Recien nacido A										
17	0	0	0	59	0	0	0	--	--	
Madre AB con Recien nacido B										
24	0	0	0	0	0	0	0	--	--	
25	0	0	0	0	0	0	0	--	--	

Aglut = Aglutinantes  
 2-ME = 2-Mercaptoetanol  
 Sal = Saliva

CUADRO 7. COMPARACION DE EMBARAZADAS COMPATIBLES Y NO COMPATIBLES.

Grupo Sanguineo		No. casos	Grupo Sanguineo		No. casos
Madre	RN		Madre	RN	
O+	O+	11	O+	A+	3
A+	O+	3	O+	B+	1
A+	A+	1	A+	B+	1
AB+	B+	2	B+	AB+	1

RN = Recien nacido

O+ = tipo O Rh positivo

A+ = tipo A Rh positivo

AB+ = tipo AB Rh positivo

CUADRO 8. COMPARACION DE DONADORAS Y EMBARAZADAS COMPATIBLES CON SU RECIEN NACIDO CON BASE EN 2-MERCAPTOETANOL.

COMPATIBLES							
Embarazadas:				Anti-A		Anti-B	
Casos	Madre	RN	Inter	$\bar{X} \pm D.E$	Inter	$\bar{X} \pm D.E$	
11	O+	O+	6 - 47	27 $\pm$ 12.3	0 - 36	22.1 $\pm$ 12.9	
5	A+	O+	---	-----	37-114	27 $\pm$ 16.9	
1	A+	A+		Caso Unico			
2	AB	B	---	-----	-----	-----	
Donadoras:							
19	O	--	0 - 44	19 $\pm$ 11.5	0 - 47	14.9 $\pm$ 13.04	
5	A	--	-----	-----	0 - 14	6.8 $\pm$ 7.01	
1	B	--	-----	Caso Unico			
1	AB	--	-----	-----	-----	-----	

O+ = tipo de sangre O Rh positivo  
 A+ = tipo de sangre A Rh positivo  
 B+ = tipo de sangre B Rh positivo  
 AB = tipo de sangre AB  
 RN = Recien nacido

CUADRO 9. INTENSIDAD DE REACCION DE ANTICUERPOS  
AGLUTINANTES Y SENSIBILIZANTES, MEDIDA  
POR LA TECNICA DE Coombs DE MADRES  
INCOMPATIBLES.

Caso	Anti-A			Anti-B			Eluido		
	Aglut.	Sal	2-ME	Aglut.	Sal	2-ME	Aglut.	Sal	2-ME
Madres O con Recien nacido A									
5	59	23	14	28	6	41	0	1+	--
6	59	0	0	32	8	21	0	1+	--
12	116	6	24	75	5	35	0	4+	--
Madres O con Recien nacido B									
3	86	6	48	96	0	48	2+	--	4+
Madres A con Recien nacido B									
22	0	0	0	48	0	27	0	--	2+
Madres B con Recien nacido AB									
23	49	5	24	0	0	0	0	--	--

O = tipo de sangre O

A = tipo de sangre A

B = tipo de sangre B

AB = tipo de sangre AB

Aglut = anticuerpos aglutinantes

Sal = saliva

2-ME = 2-Mercaptoetanol

CUADRO 10. COMPARACION DE MADRES CON INCOMPATIBILIDAD PARA EL SISTEMA ABO.

No. casos	Cpo. Madre	Cpo. RN	Aglutininas				
			Inter	Anti-A		Anti-B	
				X	± D.E.	Inter	X ± D.E
3	O+	A+	59-116	78 ± 32.9	29-75	45 ± 26	
1	O+	B+	Caso	Unico			
1	A+	B+	Caso	Unico			
1	B+	AB+	Caso	Unico			
2- Mercaptoetanol							
No. casos	Cpo. Madre	Cpo. RN	Inter	Anti - A		Anti - B	
				X	± D.E.	Inter	X ± D.E.
3	O+	A+	14-24	12.6 ± 12.05	21-41	33 ± 10.3	
1	O+	B+	Caso	Unico			
1	A+	B+	Caso	Unico			
1	B+	AB+	Caso	Unico			

O+ = tipo de sangre O Rh positivo  
 A+ = tipo de sangre A Rh positivo  
 B+ = tipo de sangre B Rh positivo  
 AB+ = tipo de sangre AB Rh positivo  
 2-ME = 2- Mercaptoetanol  
 RN = Recien nacido

CUADRO 11. COMPARACION DE EMBARAZADAS COMPATIBLES  
E INCOMPATIBLES CON SU RECIEN NACIDO (RN)  
CON BASE EN EL 2-MERCAPTOETANOL.

COMPATIBLES						
No. Casos	Gpo. Madre	Gpo. RN	Inter	Anti-A X ± D.E	Anti-B Inter	X ± D.E
11	O+	O+	6-47	27 ± 12.3	0-36	22.1 ± 12.9
5	A+	O+	---	-----	37-114	27 ± 16.9
1	A+	A+	Caso Unico			
2	AB+	B+	---	-----	---	-----
INCOMPATIBLES						
3	O+	A+	59-116	78 ± 32.9	29-75	45 ± 26
1	O+	B+	Caso Unico			
1	A+	B+	Caso Unico			
1	B+	AB+	Caso Unico			

CUADRO 12. TABLA DE CONVERSION DE GRADOS DE AGLUTINACION A PUNTAJE (DE ACUERDO AL BANCO DE SANGRE DEL INPer.

---

4+	=	12
3+	=	10
2+	=	8
1+	=	5
(+)	=	3
Granelto	=	1

---

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Bhagavan, N. V. (1983). Bioquímica. 2a.ed. Ed. Nueva Editorial Interamericana. México. pp 550.
- 2.- Calabuig, S., Sánchez-Fayos, R., Uterriño, C., Serrano, R., Pérez-Iglesias, J., Pérez-Piño, L., Paniagua, C. (1977). La afectación inmunológica neonatal (ABO) entre el embarazo heteroespecífico (ABO) y la enfermedad hemolítica (ABO). Sangre., 22(4): 409-420.
- 3.- Cook, L.N. (1982). ABO hemolytic disease. Clin. Obstr. Gynecol., 25(2): 333-339.
- 4.- Dorantes, M.S. (1983). Anti-U hemolytic disease of the newborn. Transfusion., 23 (3): 272-280.
- 5.- Dufor, D.R. y Monaghan, P.W. (1980). ABO hemolytic disease of the newborn. A retrospective analysis of the 254 cases. Am. Soc. of Clin. Pathol., 73 (3): 369-373.
- 6.- Fink - de Cabutti, A. y Palatnic, M. (1981). Aloanticuerpos ABO en indígenas Toba del Chaco Argentino. Sangre., 26 (4): 439-446.
- 7.- Fudenberg, H. (1979). Inmunología Clínica. 3a ed. Ed. Manual Moderno. México. pp 880.
- 8.- Gayton, A. C. (1977). Tratado de Fisiología Médica. 3a ed. Ed. Interamericana. México. 350 pp.
- 9.- Grundbacher, F.J. (1980). The ethiology of ABO hemolytic disease of the newborn. Transfusion., 20 (5) :563-568.
- 10.- Gupte, S.C., Kothari, J. and Bhatia, H.M. (1975). Influence of birth weight on the severity of hemolytic disease of the newborn to ABO incompatibility. Indian Ped., 12 (6): 477-483.
- 11.- Lehninger, A.E. (1981). Bioquímica. 2a. ed. Ed Omega. Barcelona. pp 1117.
- 12.- Linich, A. (1973). Lo esencial de la Inmunología. Ed. Manual Moderno. México. pp 210.
- 13.- Linares, G.J. (1976). Inmunohematología básica aplicada en el banco de sangre. 2a ed. Ed Litotec. pp 320.
- 14.- Margni, R.E. (1972). Inmunología e Inmunología. 3a ed. Ed Médica Panamericana. pp 210.
- 15.- Montgomery, R. (1980). Biochemistry: A case-oriented approach. 3a. ed. Plenum Press. New York. pp 450.

- 16.- Mollison, P.L. (1979). Blood transfusion in clinical medicine. 6a ed. Ed Blackwell. New York. pp 1670.
- 17.- Quian-Nei, L. and Cui-hua, H. (1980). Amniotic fluid fetal blood group prediction and use in newborn hemolytic disease. Chinese Med. J., 95 (2): 234-240.
- 18.- Rowger, P.H., Salmon, C.H. (1979). A new approach to the thermodynamic study of ABO antibodies. Immunol., 37: 547-553.
- 19.- Schenkel- Brunner, H. (1979). Localization of the blood group A and I antigenic sites on in-side-out and right side-out human erythrocyte membrane vesicles. Immunol., 36: 33-36.
- 20.- Thompson, J.S. and Thompson, M.W. (1981). Genética Médica. 2a ed. Ed. Salvat. pp 560.
- 21.- Wintrobe, M.L. (1979). Hematología Clínica. 4a ed. Ed Intermédica. México. pp. 470.
- 22.- Weissman, I.L. y Hood, L.E. (1983). Inmunología: Conceptos fundamentales. Ed Alhambra. España. pp 110.
- 23.- Ham, W.A. (1979). Tratado de Histología. 6a ed. Ed. Interamericana. México. pp 1025.
- 24.- Zmijewski, Ch. N. (1978). Inmunohematology. 3a ed. Ed. Appleton. New York. pp 459.