



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

SISTEMA RHESUS (Rh)  
REVISION BIBLIOGRAFICA Y HEMEROGRAFICA.

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**  
P R E S E N T A :  
**JUANA ALEJANDRA ABOYTES HERNANDEZ**

ASESOR: M. EN C. FRANCISCO LOPEZ MEJIA

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

2002

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



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 esta 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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
 P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
 Jefe del Departamento de Exámenes  
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Sistema Rhesus (Rh): revisión bibliográfica y hemerográfica"

que presenta la pasante: Juana Alejandra Aboytes Hernández  
 con número de cuenta: 9013853-1 para obtener el título de :  
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 14 de Diciembre de 2001

PRESIDENTE

Q.F.B. Idalia Avila Miyazawa

VOCAL

M. en C. Francisco López Mejía

SECRETARIO

Q.F.B. Martha Patricia Campos Peón

PRIMER SUPLENTE

Q.F.B. Gabriela Escalante Reynoso

SEGUNDO SUPLENTE

M. en C. Norma L. Delgado Buenrostro

*Agradezco primero que a nadie a mis padres Salvador y Yolanda por el apoyo que siempre me han prestado, por estar conmigo en todo momento.*

*A mis hermanos: Pepe, Maru y Ana por saberme retar y no dejar que me diera por vencida jamás.*

**ÍNDICE TEMÁTICO.****HOJA**

1. Resumen	6
2. Introducción	7
3. Objetivos	9
4. Eritrocito	10
4.1. Organización estructural de la membrana	10
4.2. Lípidos de membrana	12
4.3. Composición proteica	14
5. Clasificación de los grupos sanguíneos de acuerdo a su estructura	17
5.1. Grupos asociados a estructuras de hidratos de carbono	17
5.1.1. Sistema ABH o ABO	17
5.1.2. Sistema Lewis	20
5.1.3. Sistema P	21
5.1.4. Sistema Li	21
5.2. Grupos asociados a estructuras de proteínas	22
5.2.1. Sistema Rh	22
5.2.2. Sistema Kell	22
5.3. Grupos asociados a Sialoglucoproteínas.	22
5.3.1. Sistema MNSS	22
6. Sistema Rh	25
6.1. Historia	25
6.2. Nomenclatura	26
6.2.1. Teoría de Wiener	26
6.2.2. Teoría de Fisher-Race	28
6.2.3. Comparación de los conceptos de Wiener y Fisher-Race	29
6.2.4. Nomenclatura según Rosenfiel	29
7. Bioquímica del Sistema Rh	32
7.1. Familia de proteínas Rh	37
7.1.1. Proteínas RhD y RhCcEe	37
7.2. Rh asociado con glicoproteínas	47
7.3. Expresión de proteínas Rh y RhAG durante la eritropoyesis	52
7.4. Posible función de las proteínas Rh	53
7.5. Proteínas accesorias Rh	54
8. Estructura de los genes	61
8.1. Evolución del gen de la familia Rh	61
8.2. Bases moleculares de los antígenos Rh	62
8.2.1. Antígeno CcEe	63
8.2.2. Antígeno VS y V	68
8.2.3. Antígeno G	68
8.2.4. Variantes Rh	68
8.2.5. Baja incidencia de los antígenos asociados con parciales D	72
8.3. Mapas de epítomos Rh	72
9. Aspectos clínicos del sistema Rh	74
9.1. Aloanticuerpos	74
9.2. Autoanticuerpos	76
9.3. Fenotipos parciales y débiles	79
9.4. Anemia hemolítica del recién nacido (HDN) y Rh	80
9.4.1. Mecanismo de producción de la enfermedad	80

9.4.2. Manifestaciones clínicas	83
9.4.3. Exámenes de laboratorio	83
9.4.4. Diagnóstico	84
9.4.5. Profilaxia	85
9.4.6. Tratamiento	87
9.5. Genotipos prenatales Rh	87
9.6. Genotipos no invasivos prenatales Rh	89
9.7. Rh y otros estados de la enfermedad	89
10. Discusión	91
11. Conclusiones	92
12. Glosario y abreviaturas	94
13. Referencias	97

## INDICE DE TABLAS

## HOJA

1. Glicoforinas.	15
2. Sistema ABO.	17
3. Diferenciación de los grupos sanguíneos ABO comunes.	18
4. Determinación del grupo sanguíneo ABO por la combinación de genes	18
5. Subdivisión del grupo A.	20
6. Símbolos genéticos empleados por Wiener y Fisher-Race	27
7. Notaciones abreviadas de Fisher y Wiener	29
8. Nomenclaturas de Rosenfiel, Wiener, Fisher-Race y otras.	31
9. Cambios de aminoácidos en el polipéptido CcEe y antígeno correlacionados	33
10. Categorías de eritrocitos parciales D con diferentes características	34
11. Proteínas en el complejo Rh en membranas normales RBC, estas pueden estar ausentes o reducidas en el Rh null.	35
12. Primeras selecciones de la secuencia de los oligonucleótidos por PCR.	38
13. Reacciones de proliferación dentro del eritrocito de individuos fenotipo D <sup>vi</sup>	40
14. Población de donadores D-negativos observados, documentados y teniendo ocultos RhD por medio de PCR.	70
15. Aloantígenos del sistema mayor con sus funciones básicas y significado clínico.	75

## INDICE DE FIGURAS

## HOJA

1. Modelos estructurales de la membrana eritroide	11
2. Representación esquemática de una molécula de fosfolípido (fosfatidilcolina), como una cabeza polar y dos colas hidrofóbicas	13
3. Representación esquemática de la composición y organización de las proteínas de la membrana del eritrocito	14
4. Cuadro de Punnett	19
5. Determinantes antigénicos asociados a estructuras de hidratos de carbono	21
6. Grupos asociados a Sialoglicoproteínas	23
7. Representación esquemática de los diferentes grupos sanguíneos en la membrana eritrocitaria	24
8. Caminos genéticos en la síntesis del antígeno Rh y LW	26
9. Representación esquemática de las teorías de Wiener y Fisher-Race	30
10. Modelo topológico para RhAG, RhCE y RhD	36
11. Representación esquemática de las posiciones de la delección específica de RHD o inserción específica de RhCe localizada dentro del intrón 4 de los genes respectivos	40
12. Representación esquemática de las topologías de los polipéptidos RhD, RhD <sup>o</sup> Ce y RhD <sup>o</sup> cE	42
13. Tipo I D <sup>o</sup> (delección)	43
14. TIPO II D <sup>o</sup>	43
15. Esquema de la estructura locus del gen Rh	44
16. Haplotipo RHD negativo	45
17. Organización cromosomal de la caja Rhesus	45
18. Mecanismos de conversión del gen Rh en Cis	46
19. Modelo para el regulador RH null causado por las dos mutaciones en la configuración Trans	49
20. Homocigosis del gen RH50	50
21. Muestra la aparición del complejo Rh en las células sanguíneas de la línea eritroide	53
22. Diversos transportes de aniones y cationes	54
23. Modelo estructural de algunas proteínas	55
24. Intercambio de los iones bicarbonato-cloro por la banda 3	57
25. Estructura del monómero de la cdb3	59
26. Organización tetramérica de cdb 3	60
27. Organización de los genes RHCE y RHD, organización de los exones (E) e intrones de RHCE Y RHD	61
28. Rearreglo dados en el locus Rh subiendo al D negativo y delección de haplotipos Rh	64
29. Bases moleculares de los fenotipos parciales D	65
30. Bases moleculares de los fenotipos débiles D	66
31. Cambios en RHCE	67
32. Estructuras moleculares detectadas de 17 RHD positivos, D negativos o alelos D <sub>o</sub>	69
33. Transcripciones como se encuentran por secuenciación de cDNA	71
34. Búsqueda de anticuerpos dirigidos contra los glóbulos rojos Test de Coombs	77
35. Estructura de isotipos de la IgG humana	79
36. Representación esquemática del antígeno D dentro de la superficie del eritrocito	81
37. Reacción inmunológica por Rh	82
38. Profilaxis	86
39. Tipos de regulación del RH null	90

## 1 RESUMEN

El eritrocito es una célula anucleada, la membrana esta comprendida por 52% de proteínas, 40% de lípidos, 8% de Carbohidratos. Al realizarse estudios en la membrana se han logrado conocer los sistemas sanguíneos, de los cuales se ha tomado más importancia en esta tesis al sistema Rh, el cual fue descrito en 1939-1940, aun no ha sido definido bien todavía, pero se sabe que tiene un peso molecular de 30,000 daltones y una densidad antigénica de 20,000 sitios por célula.

Los eritrocitos Rh positivos poseen un antígeno. Denominado Rh<sub>0</sub> en la nomenclatura de Wiener, Rh<sub>1</sub> por Rosenfiel y D por Fisher-Race, la indicada por el comité de la Sociedad Internacional de Transfusiones Sanguíneas es la de Rosenfiel.

Dentro de los avances genéticos se encontraron los genes RHD y RHCE, localizados en el cromosoma 1 y para las glicoproteínas Rh se encuentran codificadas en el cromosoma 6. Los genes se encuentran dentro de 10 exones. El grupo sanguíneo Rh abarca un mínimo de 45 antígenos, el RHD tiene 37 epítopos, dándose mutaciones en los rearreglos, pierde así algunos de estos creando los fenotipos parciales D, el de mayor importancia es D<sup>VI</sup>. El Rh null es muy raro, causado principalmente por un gen autosomal ( X<sup>o</sup> ), siendo el responsable de la supresión del antígeno Rh.

El sistema Rh tiene un papel importante dentro del eritrocito, ya que se considera como un transportador de amonio intercambiado por otros cationes, junto con las proteínas accesorias tiende a transportar iones y ayuda en la vida media del eritrocito, por medio del mantenimiento de la asimetría de los lípidos de membrana.

A nivel clínico su valor radica en crear una respuesta inmune en 80% de las personas D negativos, que reciben 200 ml de sangre D positivo; hallando importancia especial en las madres Rh negativo, con el fin de evitar la anemia hemolítica del recién nacido, que provoca desde una simple ictericia hasta la muerte del feto o bebé a poco tiempo de nacer.

La determinación no solo es para el antígeno D, sino también para los fenotipos parciales y el Rh nulo, dado que la de igual forma provocan la anemia hemolítica del recién nacido, uno de los problemas radica en obtener sueros tipificadores seguros, dado a una alta inestabilidad de los mismo al ser obtenidos y en el proceso de su fabricación y almacenamiento, rutinariamente las pruebas se realizan para determinar fenotipos que se consideran étnicos.



## 2 INTRODUCCIÓN

La sangre en un microlitro ( $mm^3$ ) contiene 4.5-5.5 millones de eritrocitos, 7,000-12,000 leucocitos y 150,000-400,000 plaquetas, comprendiendo el otro porcentaje el plasma que contiene normalmente agua, electrolitos, proteínas, glucosa y lípidos. La principal función de la sangre es transportar nutrientes y así como productos de síntesis, provenientes de diferentes tejidos y células, los eritrocitos que transportan oxígeno e intervienen en el equilibrio ácido-base, los leucocitos realizan mecanismos de defensa al organismo junto con proteínas que viajan en el plasma. Las plaquetas intervienen en procesos de coagulación (Nucci, 1998)

Los eritrocitos expresan antígenos en su superficie que da inmunidad a cada individuo dependiendo del grupo sanguíneo que este tenga, es importante para las transfusiones sanguíneas y trasplantes de órganos y tejidos. También son causantes de provocar diferentes enfermedades por ejemplo, la anemia hemolítica del recién nacido, causada en la mayoría de los casos por el antígeno RH, debido a la ausencia de éste en la madre y la presencia en el feto, provocando una reacción de inmunidad, de aquí la importancia de estudiar y comprender estos antígenos sanguíneos (Bernard, 1982; Mezzano, 1997; Rossel, 1997; Whitlock, 1997).

El sistema Rh fue descrito en los años 40 cuando por una investigación realizada con el mono Rhesus, al obtener sus anticuerpos y el antígeno correspondiente, se observó que causaba hemólisis en algunas sangres de origen humano y en otras no, dándose el nombre a las personas que lo portaban como Rh positivo así como es el causante en la mayor parte de los casos de la anemia hemolítica del recién nacido. Aquellas personas que no lo portan se les conoce como Rh negativo (Hardisty, 1974; Edger, 1996; Mezzano, 1997).

Es muy difícil el aislamiento del antígeno Rh debido a que es muy termolábil, no se puede guardar fácilmente en refrigeración, ni en congelación, además de ser el sistema sanguíneo con más polimorfismo, estando comprendido alrededor de 50 antígenos diferentes, los cuales en su mayoría pueden causar inmunogenicidad, si esta ausente en la otra persona.

La variación del sistema Rh se debe a un cambio dentro de la estructura o a la ausencia de aminoácidos que hacen posible la presencia o ausencia en la membrana eritroide. El sistema Rh es codificado por dos genes el RHD y el RHCE, son similares en la mayor parte de la estructura (Avent, 2000).

Esta diversidad ocasiona que sea complicado determinar el número exacto de los antígenos, además, se debe tener cuidado al momento de la preparación y elaboración de los reactivos, al igual que su almacenamiento, si no es así se crean errores o pérdida del subgrupo Rh. El más importante antígeno RHD que se encuentra presente en la mayor parte de la población mundial es D<sup>+</sup>, habiendo grupos que en algún tiempo fueron específicos de razas o grupos humanos, que en la actualidad por el mestizaje se provoca que estos tipos raros ya no se localicen solo en la región o población conocida, sino

en otras partes también, por lo que hay que tomar medidas adecuadas para evitar enfermedades relacionadas a estos (Hyland, 1998; Avent, 2000).

Se han descubierto ciertos tipos de comportamientos celulares por parte del eritrocito que se asocian a la presencia del sistema Rh, al estar dividido con una proteína como la banda 3 (cdb3), ayuda al transporte, estructura y viabilidad del eritrocito, debido a que es causante de que el eritrocito viva en tiempo determinado; así como sus funciones normales, pero estando ausente estos se ven disminuidos o alterados, en forma parcial la vida del eritrocito disminuye considerablemente, se ha visto que activa de cierta forma al sistema del complemento que ayuda a la destrucción de las células (Klensmith, 1995; Zhang, 2000; Avent, 2000).

La anemia hemolítica provoca una destrucción de los eritrocitos, y ocasiona desde una simple ictericia hasta el nacimiento del feto muerto. Solo se toman las precauciones necesarias en el segundo embarazo si el feto es Rh positivo nuevamente, si es Rh negativo no hay problemas. Esto no es siempre cierto ya que los anticuerpos que reconocen al sistema Rh son inmunoglobulinas (Ig) de tipo G, que pueden pasar la membrana placentaria y pueden provocar una respuesta contra el feto, aun sin que la madre haya tenido contacto previo con el antígeno, siendo esta reacción muy rápida y solo necesita del primer contacto para ser desencadenada, en estos casos el primer bebe tiene los problemas de la anemia hemolítica del recién nacido, y hay casos totalmente contrarios en donde a pesar de ser el segundo embarazo y ser el feto Rh positivo, no se desencadena en ningún momento la respuesta (Rapaport, 1980; Bernard, 1982; Hadrod, 1999; Avent 2000).

Por esto se deben de tomar las precauciones necesarias desde el primer embarazo, realizando pruebas que determinen la cantidad de anticuerpos en la madre contra el Rh positivo o Coombs indirecto durante el embarazo, debido a que se pueden dar abortos por la intensidad de la respuesta inmune, en la actualidad hay técnicas que permiten saber el Rh del feto antes de nacer y tomar las medidas correspondientes ( Bernard, 1982; Avent, 2000; Whelan, 2000).

### **3. OBJETIVOS**

- **Dar a conocer los nuevos avances genéticos que se han obtenido sobre el sistema Rhesus (Rh).**
  
- **Conocer la función del sistema Rhesus (Rh) dentro de la membrana del eritrocito.**
  
- **Mostrar los aspectos importantes en el ámbito clínico, mostrando los riesgos y enfermedades que causa la ausencia del sistema Rhesus (Rh).**

## 4. ERITROCITO.

Aproximadamente 2.5 billones de eritrocitos circulan en 450 Km de nuestro organismo, miden entre 7 y 8 micras de diámetro y tienen que atravesar la luz de los capilares mediante la capacidad eritrocitaria para deformarse, debido a que su diámetro excede al de los capilares (2-3 $\mu$ ) (Mezzano, 1997) depende de la integridad de la membrana celular, su citoesqueleto y del mantenimiento de un equilibrio iónico y osmótico, implicando un gasto de energía (Gnagnashi, 1991).

La fuente de energía del eritrocito es la glucosa, penetra y emplea la vía glucolítica anaeróbica para producir ATP (Adenosil-Tri-Fosfato), este es necesario para las bombas iónicas, el equilibrio osmótico y la preservación de las proteínas de membrana (Gnagnashi, 1991)

Es una célula nucleada, la expulsión de su núcleo es el principal factor responsable de que en reposo, tenga la forma de disco bicóncavo, refleja el exceso de superficie celular, tiene un volumen de 90 micras<sup>3</sup> en una superficie 140 micras<sup>2</sup> (Gnagnashi, 1991)

La forma depende de múltiples factores como son el medio que lo rodea, la actividad metabólica que realice y la edad del eritrocito. Durante los 100 a 120 días de vida, éste viaja el equivalente a 250,000 Km, dentro de los capilares la deformabilidad eritrocitaria es el principal determinante reológico del flujo y la viscosidad sanguínea (Phoenie, 1996).

Las propiedades viscoelásticas de la membrana del eritrocito son importantes, una suspensión de eritrocitos tiene una viscosidad inferior a la de una solución de hemoglobina de la misma concentración, por lo que se han apreciado movimientos que semejan a una cadena de tanque alrededor del citosol, esto implica que el eritrocito no obstruye el flujo sanguíneo, sino que participa en él como si fuera una gota de líquido dentro. La membrana eritrocitaria, además de servir como barrera, contiene bombas y canales para sodio, potasio, calcio; facilita el transporte de glucosa y otras moléculas de menor tamaño (Phoenie, 1996, Rossel, 1997, Mezzano, 1997).

### 4.1 Organización estructural de la membrana

La membrana del eritrocito representa el modelo arquetípico para otros sistemas de membranas celulares. Al igual que otras células, tienen una bicapa lipídica, de 4 a 5 nm de espesor, formada principalmente por fosfolípidos, colesterol y algunos glucolípidos, una serie de proteínas de membrana dirigidas hacia el medio citoplasmático, estas pueden ser divididas en periféricas e integrales, las primeras pueden disociarse fácilmente y las segundas únicamente se disocian después de un tratamiento energético. (Henry, 1993) Esta compuesta globalmente por alrededor de un 52% de proteínas, 40% de lípidos y 8% de carbohidratos. (Mezzano, 1997)

Se compone de tres elementos básicos: la bicapa de fosfolípidos; las proteínas integrales, enclavadas en la bicapa, y las proteínas periféricas, que forman el esqueleto de la membrana (espectrina, ankirina, proteína 4.1, actina y tropomiosina) (Fig. 1), localizadas por debajo del lado citoplasmático de la bicapa. Algunas proteínas están ancladas en el citoesqueleto y se insertan en el interior de la membrana celular, la "banda 3" (cdb 3) constituyen aproximadamente el 25% de las proteínas, se encuentran en forma dimerica, con un "canal" central que es importante para el transporte iónico. Las moléculas glucoproteicas son responsables de la mayor parte de la carga negativa neta en la superficie de la membrana eritrocitaria, se origina a partir de las porciones carbohidratadas superficiales constituidos principalmente de ácido siálico (Sialoglucoproteínas) (Henry, 1993)

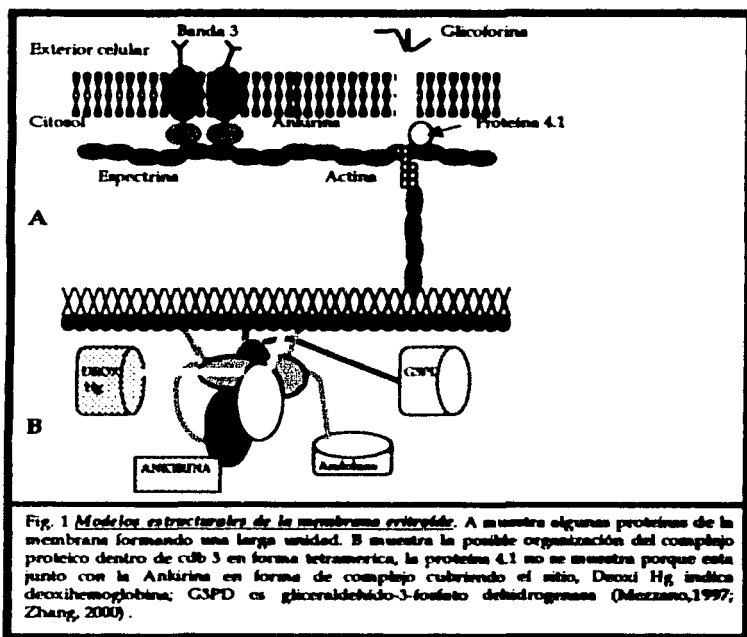


Fig. 1 Modelos estructurales de la membrana eritrocitaria. A muestra algunas proteínas de la membrana formando una larga unidad. B muestra la posible organización del complejo proteico dentro de cdb 3 en forma tetramérica, la proteína 4.1 no se muestra porque está junto con la Anquirina en forma de complejo cubriendo el sitio, DRCO Hg indica deoxihemoglobina; GSPD es gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (Mazzano, 1997; Zhang, 2000).

## 4.2 Lípidos de membrana

En el eritrocito maduro, todos los lípidos de la célula están contenidos en la membrana y son parcialmente responsables por sus características físicas como son: permeabilidad pasiva de cationes y la flexibilidad mecánica. (Mezzano, 1997).

**Composición lipídica.** Los fosfolípidos y el colesterol no esterificado constituyen alrededor del 95% del total de los lípidos de la membrana, existen pequeñas cantidades de glicolípidos, glicéridos y ácidos grasos libres. La concentración aproximada es: fosfatidilcolina 30%, fosfatidiletanolamina 28%, fosfatidilserina 14% y esfingomelina 25%, no están dispuestos simétricamente entre las superficies internas y externas de la membrana, el 82% fosfatidiletanolamina y la fosfatidilserina están localizados en su mayor parte dentro de la superficie interna de la membrana, la fosfatidilcolina en un 76%, y en un 82% están hacia la superficie (Mezzano, 1997)

Los ésteres polares de ácidos fosfóricos son hidrofílicos y las colas de los ácidos grasos son hidrofóbicos con un arreglo en las partes determinantes de los fosfolípidos de membrana. Los eritrocitos no pueden sintetizar en su composición lípidos, su única oportunidad es mediante la incorporación de diferentes ácidos grasos libres (FFA), que cambian entre la membrana y el plasma, y en la conversión de fosfatidiletanolamina a fosfatidilcolina, este cambio es lento y está influenciado por los fosfolípidos y FFA del plasma, la composición en la membrana del eritrocito puede ser alterada por cambios en la dieta (Hall, 1991)

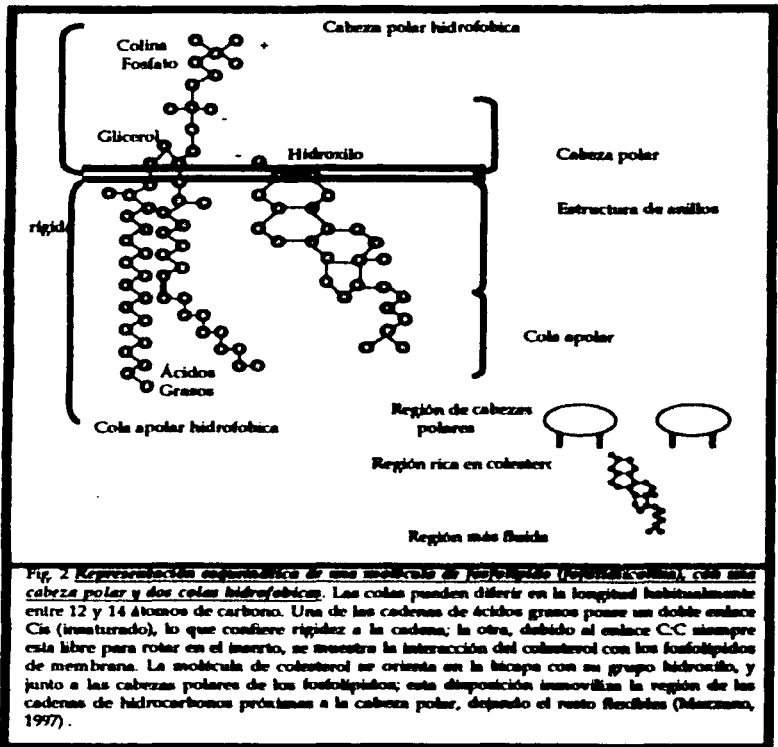
Las interacciones moleculares entre el colesterol y los fosfolípidos son responsables de la empaquetada interposición de las dos estructuras, que es fundamental para el mantenimiento de la integridad de la membrana. El grupo hidroxilo polar del colesterol se encuentra inmerso y en contacto con las cabezas polares de fosfolípidos, mientras que la región esteroil se intercala con las cadenas hidrocarbonadas no polares de los fosfolípidos, esta interpolación, inmoviliza los 10 átomos de carbono más próximos a la superficie de la membrana, estabilizando las proteínas subyacentes del esqueleto, los extremos libres para moverse, creando una zona intermedia fluida, dando flexibilidad y fluidez lateral; está se da por la unión fosfolípido-colesterol (F:C), la proporción relativa de los distintos fosfolípidos y la presencia de cadenas laterales de los ácidos grasos insaturados (Fig. 2) (Mezzano, 1997)

La ausencia de fosfatidilserina endógena en la capa externa y el rápido movimiento al interior de los análogos exógenos, indica que existen mecanismos para el mantenimiento y va en contra de esta asimetría. Se han propuesto dos mecanismos distintos

- 1) Interacción selectiva de las proteínas del citoesqueleto con los amino fosfolípidos, se ha demostrado una interacción directa entre la fosfatidilserina y proteínas del citoesqueleto las cuales son; la espectrina y la banda 4.1, se sugiere que contribuyen al mantenimiento de la simetría de los fosfolípidos,

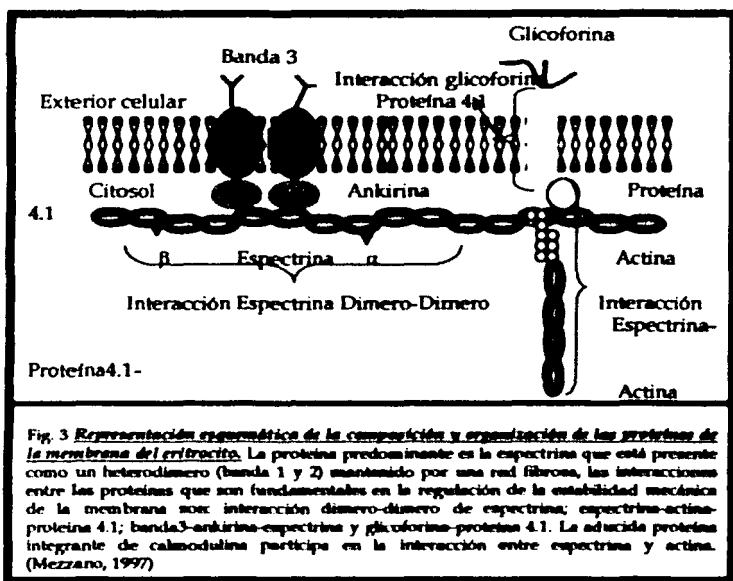
los fosfolípidos, por anclaje de la fosfatidilserina a la cara interna de la membrana del eritrocito.

- 2) Movimiento de la fosfatidilserina a través de la membrana, se da mediante la existencia de un proceso de transporte dependiente de energía, que específicamente mueve fosfolípidos desde la capa externa hacia la interna, dada por un mecanismo de transporte facilitado, que comprende transportadores específicos de lípidos y requiere de ATP. una proteína es asociada al sistema Rh, proponiéndose como una translocasa que mantiene la asimetría de los lípidos, está forma un complejo con una ATPasa o proteína quinasa (Mezzano, 1997)



### 4.3 Composición proteica

Las proteínas de la membrana están divididas en dos grupos generales: proteínas integrales y periféricas. Las proteínas integrales están fuertemente unidas a la membrana a través de interacciones hidrofóbicas con los lípidos de la bicapa, como son cdb 3 y las glicoforinas, estas proteínas atraviesan la membrana y tienen dominios funcionales y estructurales, en ambos lados de la bicapa lipídica; pueden ser liberadas por manipulación de la fuerza iónica u otras sustancias capaces de alterar las proteínas. Las proteínas periféricas que incluyen la espectrina, la actina y la proteína 4.1 constituyen el citoesqueleto de la membrana (Fig. 3) (Eastham, 1993, Mezzano, 1997).



Las proteínas de membrana entroide más abundantes son la cdb3 y una familia de Sialoglicoproteínas llamadas glicoforinas. La cdb3, intercambia aniones, constituyendo alrededor del 25%, existen alrededor de un millón de copias, compuesta de tres dominios uno hidrofílico, que interactúa con Anquirina, proteína 4.1, proteína 4.2, hemoglobina y enzimas glicolíticas; el hidrofóbico transporta aniones y ácido terminal de función desconocida, también contiene oligosacáridos que expresan el grupo sanguíneo *Ii*. Las dos funciones establecidas para la cdb 3 en la membrana son:

- 1) su capacidad de transportar iones



- 2) Su papel en la unión entre la bicapa lipídica y las proteínas del esqueleto a través de su interacción con Ankirina y secundariamente con proteínas 4.1 o 4.2. (Mezzano, 1997)

Las glicoforinas A, B, C y D son glicoproteínas ricas en ácido siálico; que constituyen aproximadamente el 2% de las proteínas de membrana, poseen dos dominios citoplasmático, el hidrofóbico que forma una doble hélice a través de la membrana y un dominio extracelular que esta fuertemente glicosilado: glicoforina A expresa al grupo sanguíneo MN, glicoforina B Ss y glicoforina C el Gerbich, la presencia de carbohidratos en estas glicoforinas da una carga negativa a la superficie de la célula, importante en la reducción de la interacción entre los eritrocitos y otras células. Además, la glicoforina C une el citoesqueleto a la bicapa lipídica a través de su interacción con la proteína 4.1. Aparte de las glicoforinas existen otras proteínas integrales que expresan determinantes de los grupos sanguíneos, como RH, Kell y Duffy; no han sido completamente caracterizadas (Tabla 1) (Mezzano, 1997).

Proteína	Grupo sanguíneo
Glicoforina A	MN
Glicoforina B	Ss
Glicoforina C	Gerbich
Oligosacáridos	I/i

Tabla 1 *Glicoforinas*. Se muestran las glicoforinas y su correspondiente grupo sanguíneo que expresan, al igual que el oligosacárido (Propia, basada en Mezzano, 1997).

Una red filamentososa de proteínas periféricas conocida como esqueleto de membrana, posee tres componentes principales: espectrina (proteína 1 y 2), Ankirina (proteína 2.1) y proteína 4.1 se anclan a la bicapa a través de proteínas integrales. (Mezzano, 1997).

La unión física del esqueleto de la membrana a la bicapa lipídica se logra mediante dos interacciones importantes:

- A) La primera es dependiente de la Ankirina, la cual interactúa con la espectrina en el esqueleto y la cdb 3 en la bicapa.
- B) La segunda unión se realiza a través de la interacción de la proteína integral glicoforina C y la proteína del esqueleto 4.1. (Mezzano, 1997)

Esta estructura es la responsable de las propiedades de la membrana. Durante su circulación el eritrocito sufre constantes ciclos de deformación y relajación, lo que requiere que el esqueleto se acomode a extensos y dinámicos cambios en la forma celular; esto se logra por regulación dinámica de las interacciones entre proteínas, los mecanismos para la asociación entre proteínas incluyen:

- 1) Fosforilación
- 2) Variación en el magnesio intracelular

3) 2-3 DPG que acompaña el ciclo de oxigenación-desoxigenación

4) Así como aumento de calcio intracelular mediado por calmodulina (Mezzano, 1997).

El 8% de los carbohidratos está integrado por glicoproteínas y glicolípidos, en estos predomina sobre el exterior siendo Sialoglicoproteínas,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$  que se localizan, la  $\alpha$  lleva la actividad de los grupos M o N, las dos Sialoglicoproteínas  $\beta$  y  $\gamma$ , se asocian con el mantenimiento de la forma del eritrocito. El ácido siálico es progresivamente requerido para la superficie de la red celular en el tiempo de circulación (Hall, 1991).

## 5. CLASIFICACIÓN DE LOS GRUPOS SANGUÍNEOS DE ACUERDO A SU ESTRUCTURA.

### 5.1 Grupos asociados a estructuras de hidratos de carbono.

Tras extensos estudios de las secreciones y extracto de la membrana eritrocitaria, se han logrado conocer los determinantes de H, A, B, Le, P, I, e i. La sustancia precursora esta conformada por 2 D-galactosa, N-acetil, D-glucosamina, y D-glucosa-ceramida. La acción de la fucosiltransferasa sobre la sustancia precursora forma el determinante H (Henry, 1993).

#### 5.1.1 Sistema ABH

Las especificidades antigénicas del sistema A, B y H están determinadas por carbonos terminales que se unen a la membrana eritrocitaria, la sustancia H por medio de transferasa, las cuales al integrar a la estructura una molécula de N-acetilgalactosamina se forma la sustancia A y si es D galactosamina la sustancia es B (Henry, 1993)

**Sistema ABO.** Karl Landsteiner describe el sistema sanguíneo ABO en 1900, con la presencia de dos aloantígenos A y B, que representan a los grupos sanguíneos correspondientes, los individuos que tenían el antígeno carecían del anticuerpo correspondiente en el suero (Whitlock, 1997).

**Características especiales.** El sistema ABO posee dos rasgos:

- 1) La presencia usual de aglutinas fuertemente reactivas en el suero de aquellos que carecen de los antígenos correspondientes.
- 2) La presencia regular de antígenos ABH en muchas células histicas y de anticuerpos en las secreciones, con lo cual su importancia radica en las transfusiones y transplantes de órganos (Tabla 2) (Henry, 1993)

GRUPO SANGUÍNEO	AGLUTININAS EN SUERO	ANTÍGENOS DE CÉLULAS HÍSTICAS
O	Anti-A, Anti-B, Anti-AB	H(O)
A	Anti-B	H, A
B	Anti-A	A, B
AB	Ninguna	A, B, H

Tabla 2 **Sistema ABO.** Dos formas especiales predecibles del sistema ABO (Henry, 1993).

La presencia regular de anticuerpos Anti-A o Anti-B, o ambos, que es fácil demostrar en el suero. Es el único sistema sanguíneo que puede realizar el examen de suero (determinación inversa) para confirmar los resultados de la determinación directa de los eritrocitos (Henry, 1993)

**Antígenos comunes ABO.** Se han demostrado diversas variantes de estos antígenos, sólo A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> y B tienen importancia práctica.

A<sub>3</sub>, A<sub>m</sub>, A<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> y O<sub>h</sub> se observan ocasionalmente, mientras que otros subgrupos son raros (Tabla 3) (Henry, 1993).

Eritrocitos + anti						Suero + eritrocitos				Eluato anti****	Sustancia en saliva del secretor
Fenotipo	A	A <sub>1</sub>	B	A,B	H	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B	O		
A <sub>1</sub>	4+	4+	-	4+	-	-	-	4+	-	A	H, A
A <sub>int</sub>	4+	2+	-	4+	2+	-	-	4+	-	A	H, A
A <sub>2</sub>	4+	-	-	4+	2+	**	-	4+	-	A	H, A
A <sub>3</sub>	2+	-	-	2+	3+	**	-	4+	-	A	H, A
A <sub>m</sub>	-/+	-	-	-/+	4*	-	-	4+	-	A	H, A
A <sub>4</sub>	-/+	-	-	1-2+	4*	1+	-	4+	-	A	H
(generalidades)											
B	-		4+	4+	2+	4+		-		B	H, B
B <sub>1</sub>	-		2+	2+	3+	4+		-		B	H, B
O	-		-	-	4+	4+	4+	4+	-	H	H
O <sub>h</sub>	-		-	-	-	4+	4+	4+	4+	-	-

\*Población menor de aglutinados, en campo mixto    \*\* Puede tener anti -A  
 \*\*\*El eluato de células sensibilizadas con anti-A, anti-B o anti-H, debería poseer la especificidad de anti-A, anti-B o anti-H

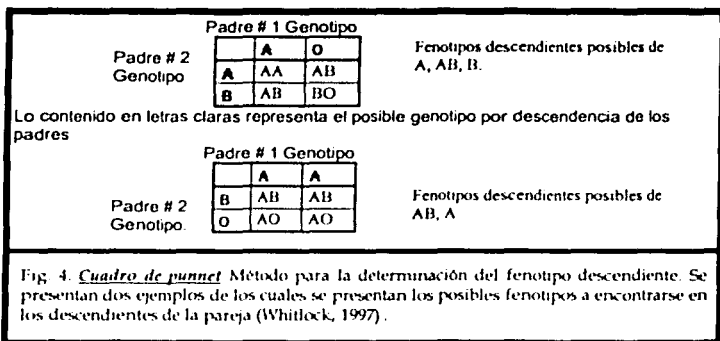
Tabla 3 *Diferenciación de los grupos sanguíneos ABO comunes* (Henry, 1993).

Los antígenos son heredados por simple herencia mendeliana de los padres hacia el individuo, estas poseen un par de genes, localizados en el cromosoma número nueve. Este puede activar a tres genes: A, B y O; los dos primeros producen un producto detectable que es un anticuerpo, el gen O es considerado amorfo, debido a que no produce un producto detectable, estos genes heredados se expresan en la sangre y pueden ser detectados con muestras control, muchas semanas antes del nacimiento Kemp (1930); descubrió un antígeno A en un feto de 37 días de gestación (Tabla 4) (Whitlock, 1997)

GRUPO SANGÜÍNEO	COMBINACIÓN DE GENES
A	AA o AO
B	BB o BO
O	OO
AB	AB

Tabla 4 *Determinación del grupo sanguíneo ABO por la combinación de genes* (Whitlock, 1997).

La terminología asociada con la herencia de los grupos sanguíneos, en donde el genotipo hace referencia al gen presente dentro del cromosoma, por ejemplo AA o AO, no es frecuente determinar ABO para un individuo sin conocer el grupo sanguíneo de sus padres, en comparación de los determinados con testigos; por ejemplo, cualquiera de los dos pares genéticos crea el fenotipo A (Fig 4) El cuadro de punnet se emplea para determinar la descendencia conociendo los tipos sanguíneos paternos o sospechando el genotipo (Whitlock, 1997)



Los genes A y B no producen sus antígenos directamente, producen una enzima conocida como transferasa, ataca una molécula de azúcar de la estructura química del antígeno, la cual da especificidad antigénica, el gen O no codifica para una transferasa por lo tanto este no produce antígeno (Whitlock, 1997).

**Naturaleza química de los antígenos del sistema ABO.** Las sustancias químicas asociadas con las especificadas del sistema del grupo sanguíneo ABO son las glucoproteínas, son macromoléculas compuestas de péptido, que se le unen cadenas cortas de carbohidratos Independientemente de la especificidad dentro del sistema ABO, cada macromolécula contiene azúcares como L-fucosa, D-galactosa, N-acetil-D-glucosamina, N-acetil-D-galactosamina y aproximadamente 15 aminoácidos (Henry, 1993, Mezzano, 1997).

El esqueleto peptídico no influye sobre la especificidad serológica de la molécula, pero sostiene a las cadenas de carbohidratos cuyos grupos terminales son los responsables de la especificidad, en una relación espacial particular una con la otra y con el resto de la molécula, la especificidad está determinada por el azúcar como grupo no reductor al extremo de la cadena. cuando está es la N-acetil-D-galactosamina la especificidad es A y D-galactosa es B, mientras que la L-fucosa es asociada con H (Henry, 1993 Mezzano, 1997).

Los productos primarios de los genes A, B y H son enzimas específicas denominadas transferasas que catalizan la adición de las unidades apropiadas de azúcar para dar las diversas especificidades A, B y H (Henry, 1993, Mezzano, 1997).

**División del grupo A.** Se subdivide en dos subgrupos anti-A<sub>1</sub>, este es un componente normal que se encuentra en los individuos del grupo B y el grupo O, y los grupos A y AB pueden subdividirse en A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub>, AB y A<sub>2</sub>B. aproximadamente el 20% de los individuos que tienen el antígeno A son A<sub>2</sub>, este es más débil que el del grupo A<sub>1</sub> y entre los cuatro grupos (Tabla 5), el más débil es A<sub>2</sub>B (Dodd, 1976)

GRUPO	SUBGRUPO	REACCIÓN CON AB ANTI-A <sub>1</sub>	PORCENTAJE DE OCURRENCIA DE AB ATÍPICOS ANTI-A <sub>1</sub> EN EL PLASMA
A	A <sub>1</sub>	+	0
	A <sub>2</sub> *	-	2
AB	A <sub>1</sub> B	+	0
	A <sub>2</sub> B*	-	26

\* Incluye tipos raros tales como A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>

Tabla 5 *Subdivisión del grupo A*. Mostrando la relación con Anti-A<sub>1</sub> y el porcentaje en el plasma (Dodd, 1976)

Entre los antígenos que se pueden manifestar sobre el eritrocito aparte del antígeno A y A<sub>1</sub> en forma más débil que A<sub>2</sub> se encuentran A<sub>3</sub>, A<sub>x</sub>, y A<sub>m</sub>; en A<sub>3</sub> se caracteriza porque muestra sólo aglutinación parcial con el suero con anticuerpo Anti-A agrupadores, se encuentran eritrocitos libres, por lo que se da un aspecto de una población celular mixta; el suero de los individuos con antígeno A<sub>3</sub> contiene comúnmente al anticuerpo Anti-A<sub>1</sub> como aglutinina fría (Dodd, 1976)

Los eritrocitos de A<sub>2</sub> se distinguen de los anticuerpos A<sub>1</sub> ya que son completamente negativos con los anticuerpos Anti-A provenientes del grupo B, pero se aglutinan con un porcentaje variable de los sueros provenientes del grupo O, en especial los que tienen un título alto de anticuerpos Anti-A. Con esto se hace mención de que los donadores O son inseguros para una transfusión a los receptores del grupo A (Dodd, 1976)

**División del grupo B.** Existen subgrupos del grupo B, pero no hay ningún subgrupo del grupo análogo a A<sub>2</sub>. Rara vez se encuentran en medicina (Dodd, 1976)

**Antígeno H.** Es una sustancia precursora de los antígenos A y B. Esto explica porque el antígeno H es altamente activo en los individuos del grupo O, sin embargo es menos activo en los individuos del grupo AB, debido a la conversión por enzimas transferasas A y B.

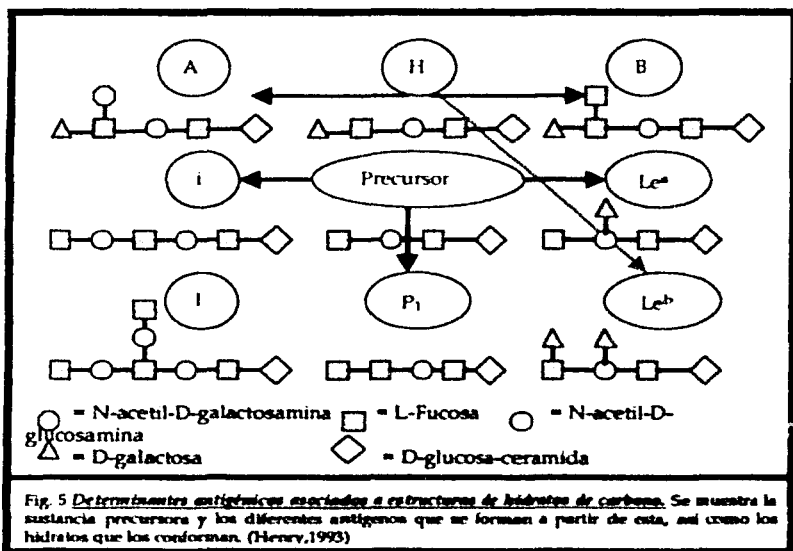
El antígeno H tiene importancia sólo si algún individuo carece de él (genotipo hh), requiere una transfusión, no pueden formar los antígenos A y B, aunque estén presentes los genes y todos ellos tienen poderosos anticuerpos Anti-H, al igual que Anti-A y Anti-B en su plasma por lo que son incompatibles con todos los eritrocitos, menos los del mismo tipo sanguíneo, es conocido como Bombay y se designa como sangre O<sub>h</sub> (Dodd 1976 Whitlock 1997)

**5.1.2 Sistema Lewis.** La sustancia Le\* se forma por adición de L-fucosa al azúcar subterminal de la sustancia precursora, en Le<sup>a</sup>, la L-fucosa se añade tanto a ese azúcar como al terminal. Se compone de antígenos solubles de los líquidos corporales provenientes del plasma, se absorben inespecíficamente sobre las membranas eritrocitarias, no se unen íntegramente a las estructuras de la membrana, lo que explica la pérdida de especificidad del antígeno por parte de las células transfundidas (Henry, 1993)

tanto a ese azúcar como al terminal. Se compone de antígenos solubles de los líquidos corporales provenientes del plasma, se absorben inespecíficamente sobre las membranas eritrocitarias, no se unen integralmente a las estructuras de la membrana, lo que explica la pérdida de especificidad del antígeno por parte de las células transfundidas (Henry, 1993).

**5.1.3 Sistema P.** La mayoría de los individuos poseen el antígeno P sobre sus hematies (1/100,000 son negativos), con fenotipo P<sub>1</sub> o P<sub>2</sub>, existen tres tipos antígenicos que se debe a los hidratos de carbono (D-galactosa) y que se añaden a los glucosfingolípidos de la membrana eritrocitaria por la acción de las transferasas codificadas por los genes del sistema P (Henry, 1993).

**5.1.4 Sistema Ii** Los antígenos I e i son estructuras relacionadas entre sí; i representa la sustancia precursora de I, del mismo modo que H es la sustancia precursora, se encuentran en relación inversa en cuanto a su concentración en la membrana. Así, mientras en los hematies del recién nacido es elevado el antígeno i, los adultos tienen un predominio casi absoluto de I, con poco o nada de i. El determinante de la antigenicidad i es una cadena recta de oligosacáridos que posee repetidas unidades de D-galactosido-N-acetil-glucosamina, ligadas a una ceramina o una proteína. La especificidad I es consecuencia de la unión de hasta cinco ramificaciones de D-glucosamina-N-acetil-D-galactosamina a las galactosas del determinante i sin ramificar (Fig. 5) (Henry, 1993).



## 5.2 Grupos asociados a estructuras de proteínas

**5.2.1 Sistema Rh.** Los antígenos Rh no están bien definidos, parecen ser de naturaleza proteica, con un peso molecular aproximado de 30,000 daltones. Se encuentran incluidos en la membrana bilipídica, con porciones de su molécula expuestas sobre la superficie externa. Se ha observado que las células Rh nulos en las que faltan todos los antígenos Rh, carecen de dos proteínas que se encuentran en las células poseedoras del antígeno Rh normal. Se cree que la ausencia de estas proteínas contribuye a la morfología y supervivencia anormales de los hematíes Rh nulos. La antigénicidad de los determinantes Rh depende de la presencia del fosfolípido de la membrana (Henry, 1993)

**5.2.2 Sistema Kell.** Los grupos sulfhidrilo desempeñan un importante papel en la estructura y antigénicidad de los antígenos del sistema Kell. El tamaño del antígeno es igual al de la proteína de la banda 3; sin embargo, es una glucoproteína expuesta de modo diferente sobre la superficie de la membrana, con un peso molecular de 93,000 daltones. Se sabe además que hay varios antígenos Kell sobre la misma glucoproteína (Henry, 1993)

## 5.3 Grupos asociados a Sialoglucoproteínas.

### 5.3.1 Sistema MNSs

En el sistema MNSs existen cuatro tipos diferentes de cadenas peptídicas;  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ , que se han aislado a partir de las membranas eritrocitarias y se conocen como Sialoglucoproteínas. Las cadenas  $\alpha$  (glucoforina A) contienen probablemente las especificidades MN, y falta en los individuos con fenotipo (a-)(M-N-). Las cadenas  $\delta$  (glucoforina B) contienen las especificidades Ss, y están ausentes en los individuos de los fenotipos (S-s-U+/-). Se conocen los determinantes antigénicos M y N, además de los T y Tn (Fig. 6). El M posee más ácido siálico que el N, antígeno M tiene serina y glicina en las porciones 1 y 5 de la porción peptídica, el antígeno N tiene leucina y glutamina (Henry, 1993)

La especificidad antigénica de MNSs parece hallarse definida por las características de los aminoácidos y por los tetrasacáridos fijados. El tratamiento de los hematíes con enzimas, como la neuraminidasa, da lugar a que disminuya la reactividad serológica antígeno específica, a causa de la eliminación del ácido N-acetilneuramínico de la membrana (Henry, 1993)

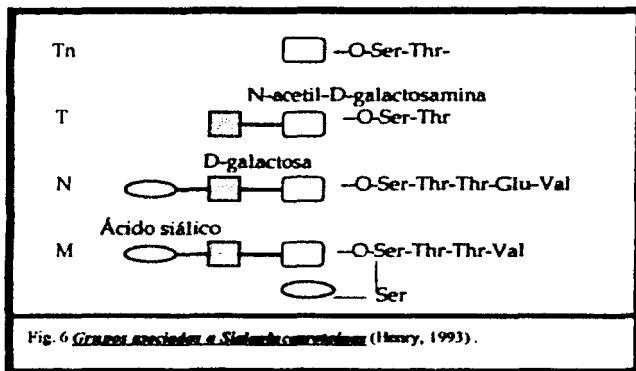
La glucoforina A penetra en la membrana, con una porción incluida dentro de la bicapa lipídica y otra que se extiende hacia el interior del citoplasma: La glucoforina B es más corta que la A, y aunque también se halla incluida en la bicapa lipídica, se cree que no hace prominencia en el interior del comportamiento citosólico (Henry, 1993)

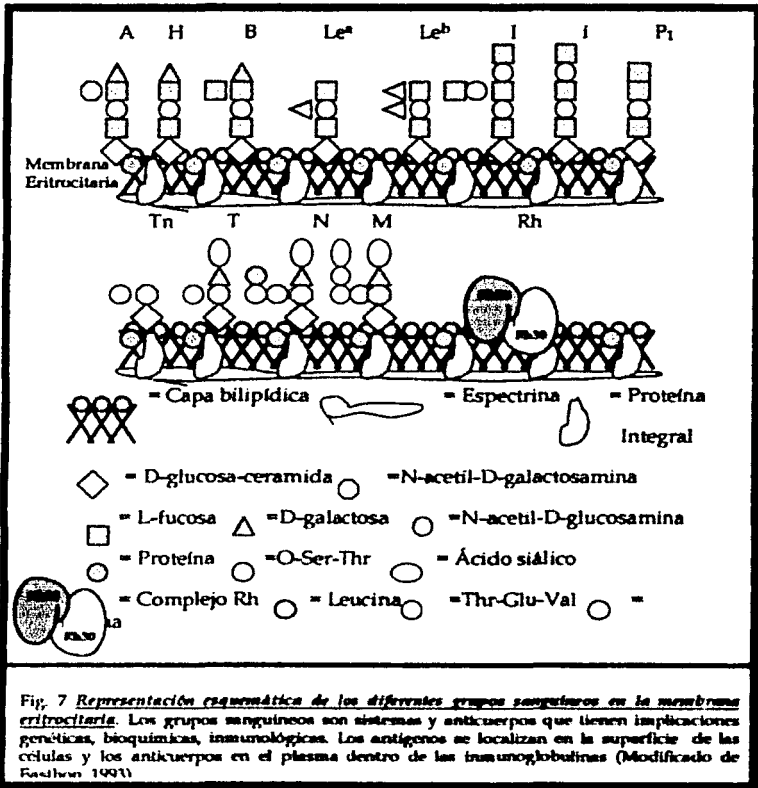
Las moléculas que expresan antígenos sobre la membrana son glicoproteínas y glicoesfingolípidos. Las glucoforinas A y B junto con la cdb poseen péptidos que se extienden más allá de la superficie celular, a los cuales



incluida en la bicapa lipídica, se cree que no hace prominencia en el interior del comportamiento citosólico (Henry, 1993).

Las moléculas que expresan antígenos sobre la membrana son glicoproteínas y glicoesfingolípidos. Las glicoforinas A y B junto con la cdb poseen péptidos que se extienden más allá de la superficie celular, a los cuales se encuentran unidos un gran número de cadenas de carbohidratos. Estas propiedades también se encuentran presentes en glicoesfingolípidos unidos a la membrana por ceramida (Fig. 7) (Henry, 1993).





## 6. Sistema Rh

Un importante sistema antigénico de los eritrocitos es el llamado sistema Rh, descrito en 1939-1940, su estructura molecular es poco conocida. Tiene una densidad antigénica de aproximadamente 20,000 sitios por célula, (Mezzano, 1997) radicados en una proteína integral de membrana, de peso molecular de 30,000 daltons. (Henry, 1993)

El sistema Rh es muy completo, existen múltiples antígenos dentro de esté, conocidos como D, C, E, c y e. (Mezzano, 1997) Una característica importante es la ausencia del antígeno; sin la existencia de anticuerpos naturales como el sistema ABO. (Henry, 1993)

### 6.1 Historia

En 1932 Diamond, Blackfan y Baty sé precartaron de que la hidropesía fetal, la anemia hemolítica del recién nacido y la ictericia neonatal grave presentaban estrechas relaciones, y dependían del mismo fenómeno como base, estos trastornos se agrupan actualmente bajo el nombre de eritroblastosis fetal. (Elger, 1996)

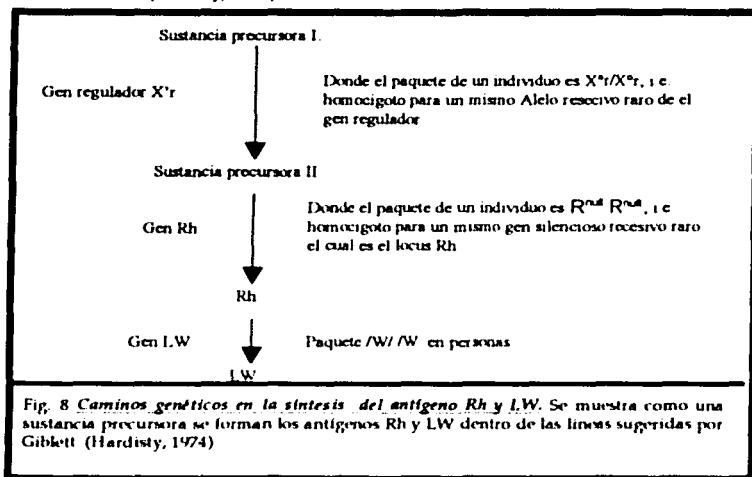
En 1939 Levine y Stetson reportaron que la anemia tenía una base inmunológica, esto se dio dentro de un suero de tipo O, en una paciente que había recibido una transfusión del mismo tipo proveniente de su marido. La paciente no presentó problemas por la transfusión; pero en su segundo embarazo tuvo un feto muerto, después de la reacción de transfusión la paciente no sólo aglutinaba con los eritrocitos de su marido sino también con 80 de 104 grupos O testigos. (Elger, 1996)

En 1940 Landsteiner y Wiener inmunizaron conejos y puercos de Guinea con eritrocitos del mono *Macacus Rhesus* y estudiaron los anticuerpos resultantes, denominados anticuerpos Anti-Rh pero estos no sólo aglutinaban con los eritrocitos del mono, sino también con los eritrocitos humanos pero sólo el 85% aglutinaban. Después, Wiener y Peters, reportaron una similitud entre anticuerpos obtenidos en una reacción de transfusión y el Anti-Rhesus, y sugiriendo con esto que los anticuerpos tanto humanos como animales eran los causantes de la aglutinación de los eritrocitos. El nombre de Rh se debe al mono *Rhesus*, también recibe el nombre de anticuerpos Anti-LW por sus descubridores (Hardisty, 1974, Elger, 1996)

En 1941 Levine, Katsin y Burnham Comprobaron que este antígeno era el responsable de la incompatibilidad entre la madre y el niño explicando la mayor parte de los casos de eritroblastosis (Hardisty, 1974)

En 1943 Mollison presentó estudios que avalaban la idea mencionada demostrando que los eritrocitos Rh positivos eran destruidos rápidamente cuando se transfundían a los niños con eritroblastosis durante las dos primeras semanas de vida, mientras que los eritrocitos Rh negativos tenían una vida media normal (Hardisty, 1974)

semanas de vida, mientras que los eritrocitos Rh negativos tenían una vida media normal (Hardisty, 1974)



## 6.2 Nomenclatura

Los eritrocitos Rh-positivos poseen un antígeno denominado  $R_h$  en una nomenclatura y D en otra. Una persona Rh positiva es homocigótica (D/D) o heterocigótica (D/d); un individuo Rh negativo es genéticamente (d/d). El sistema Rh contiene otros antígenos además de los D y d encontrando C/c, y E/e situados juntos en cromosoma que se hereda de cada progenitor como una sola unidad (Leavell, 1978)

El rápido descubrimiento de varios antígenos diferentes en este sistema, y la aparición de distintas terminologías para los antígenos, ha creado una confusión, esto es debido a diferentes teorías de como el sistema es heredado (Tabla 6) (Leavell, 1978)

### 6.2.1 Teoría de Wiener

Considera que un gen da lugar a un aglutinógeno sobre la superficie del eritrocito y que éste a su vez posee un número determinado de factores sanguíneos (Coombs, 1980). Tomando en cuenta la existencia de una serie básica de ocho genes alélicos, de los cuales pueden estar presentes cualquiera de ellos en un individuo heterocigótico. Cada uno de estos genes es responsable de la existencia de un antígeno capaz de incitar la producción de una o más clases de anticuerpos y de combinarse entre ellos (Dodd, 1976)

factores sanguíneos y su correspondiente anticuerpo, que se expresan para ambos casos con dos letras seguidas de un subíndice o exponentes (Dodd, 1976).

	GENOTIPOS SINÓNIMOS		WIENER Rh-Ir			FISHER-RACE			FRECUENCIA APROXIMADA	
	Wiener	Fisher	Alelo	Aglutinógeno	Factores	Complejo de genes	Antígeno	Notación	Raza blanca	Raza negra
	R <sup>1</sup> R <sup>0</sup> R <sup>1</sup> r	CDe/cDe CDe/cde	R <sub>1</sub>	Rh <sub>1</sub>	Rh <sub>0</sub> , rh', rh''	CDe	CDe	R <sub>1</sub>	34	23
	R <sup>2</sup> R <sup>0</sup> R <sup>2</sup> r	cDE/cDe CDE/cde	R <sub>2</sub>	Rh <sub>2</sub>	Rh <sub>0</sub> , hr', rh''	cDE	cDE	R <sub>2</sub>	12	12
Rh <sub>0</sub> (D)	R <sup>0</sup> R <sup>0</sup> R <sup>0</sup> r	cDe/cDe cDe/cde	R <sup>0</sup>	Rh <sub>0</sub>	Rh <sub>0</sub> , hr', hr''	cDe	cDe	Rh <sub>0</sub>	2	48
Positivo	R <sup>1</sup> R <sup>1</sup>	CDe:CDe	R <sup>1</sup>	Rh <sub>1</sub>	Rh <sub>0</sub> , rh', rh''	CDE	CDE	R <sub>1</sub>	18	4
	R <sup>1</sup> R <sup>2</sup>	CDe:cDE							13	3
	R <sup>2</sup> R <sup>2</sup>	CDE: CDE							2	2
	OTROS								< 2	< 2
	TOTAL DE Rh <sub>0</sub> (D) POSITIVOS								83	93
	rr	cde/cde	r	rh	hr', hr''	cde	ce	r	16	6
	r'	Cde/cde	r'	rh'	rh', hr''	Cde	Ce	r'	} < 2 < 2	} < 2 < 2
Rh <sub>0</sub> (d)	r'r	cdE/cde	r'	rh'	hr', rh''	cdE	cE	r'		
Negativo	r	Cde/cde	r	rh'	rh', rh''	CdE	CE	r <sub>y</sub>	Muy raro	
	TOTAL DE Rh <sub>0</sub> (d) NEGATIVOS									

Tabla 6 Símbolos genéticos empleados por Wiener y Fisher-Race, los símbolos genéticos equivalentes empleados por Wiener y por Fisher-Race, así como la frecuencia aproximada de cada uno de ellos. Son tres terminologías o nomenclaturas las empleadas que son las de Wiener, Fisher-Race y Rosenfield, las cuales se mencionan a continuación (Leavell, 1978).

El símbolo Rh<sub>0</sub> lleva mayúscula, porque representa al primer antígeno Rh descubierto y porque todavía sigue siendo el más importante en la enfermedad hemolítica del recién nacido. Los símbolos rh' y rh'', designan antígenos encontrados posteriormente; los Rh<sub>1</sub> y Rh<sub>2</sub> se refieren a antígenos complejos.

con doble especificidad; el Rh<sub>1</sub> se compone de las unidades Rh<sub>0</sub> y rh' y Rh<sub>2</sub> consta de las unidades Rh<sub>0</sub> y rh". Los símbolos Rh<sub>1</sub> y Rh<sub>2</sub> se aplican a antígenos con especificidades múltiples, el mismo símbolo rh como representante de un antígeno complejo con las dos especificidades, hr' y hr" (Dodd, 1976). Además, dos nuevos antisueros han permitido ampliar la descripción de los otros símbolos. Un ejemplo, es que el gen R' produce aglutinógenos (antígenos) Rh<sub>1</sub>, el cual es compuesto por tres factores: rh', Rh<sub>(0)</sub> y hr", los tres factores son análogos a C, D y e respecto a la nomenclatura de Fisher-Race. El locus Rh produce un gen; pero este tiene alelos múltiples (brie.Medlabs, 2001).

### 6.2.2 Teoría de Fisher-Race.

Esta teoría tiene su origen en Inglaterra con la concepción analítica del genético y matemático británico R.A. Fisher quien propuso en una propuesta presentada por Race en 1944, que los antígenos Rh entonces conocidos, podrían considerarse como producto de la acción de tres pares alelomórficos muy estrechamente ligados se postulaban como básicos del sistema: C/c, D/d y E/e, produciendo cada gen de cada par un sólo antígeno con la facultad de reaccionar con él; cada uno producirá un antígeno designado con idéntica letra (Coombs, 1980). Cada locus tiene dentro de los alelos Dd, Cc y Ee, el gen D es dominante al gen d, pero Cc y Ee son codominantes, los tres loci se encuentran encerrados, los cruces dentro de estos no ocurren, los tres genes se localizan dentro de un cromosoma, son siempre heredados juntos (brie Medlabs, 2001)

El uso de mayúsculas o minúsculas no hace referencia a la dominancia o recesividad, sino solo para indicar que se trata de caracteres alélicos. Cualquier individuo recibe un miembro de cada par de genes de cada progenitor, de manera que son posibles ocho complejos de genes. Las relaciones de estos genes en los cromosomas de un individuo heterocigótico para todos ellos, son las siguientes:

CDE

-----  
cde

Naturalmente, también puede haber otras combinaciones de los tres alelos en determinados cromosomas, por ejemplo; Cde, cDE, Cde, etc.

Quando se formuló esta teoría se conocían antisueros para los antígenos C/c, D y E. se sugería la existencia de antisueros para los antígenos d y e. Además, se intuyó la existencia del entonces desconocido gen C(d)E; que posteriormente fue demostrada su existencia, al igual que el antisuero anti-e, pero a la fecha no se ha demostrado la existencia del antisuero anti-d, por lo que a los Rh negativos se les considera d/d genotípicamente (Cushing, 1960) Hay (Tabla 7) un paralelismo entre ambas terminologías, semejantes las dos series de símbolos para cinco clases de anticuerpos Rh tienen las siguientes equivalencias.

Anti-Rh<sub>0</sub> = anti-D

Anti-rh' = anti-C

Anti-rh" = anti-E

Anti-hr' = anti-c

Anti-hr" = anti-e

(Anti-Hr<sub>0</sub> = anti-d)\*

\* No todos admiten su existencia (Cushing,1960).

Fisher 1944	Notaciones abreviadas más usadas	Wiener 1949
CDe	R <sup>1</sup>	R <sup>1</sup>
cde	r	r
cDE	R <sub>2</sub>	R <sup>2</sup>
cDe	R <sub>e</sub>	R <sup>0</sup>
C*De	R <sub>2</sub> *	R <sup>2*</sup>
cdE	R <sub>2</sub> '	r'
Cde	R <sub>1</sub> '	r'
CDE	R <sub>1</sub>	R <sup>1*</sup>
C*de	R <sub>1</sub> *	r <sup>1*</sup>
CdE	R <sub>1</sub> '	r <sup>1</sup>
C*DE	R <sub>1</sub> '*	muy baja
C*dE	R <sub>1</sub> ' <sub>2</sub>	frecuencia

Tabla 7 *Notaciones abreviadas de Fisher y Wiener.* (Cushing, 1960. Leavell, 1978)

### 6.2.3 Comparación de los conceptos de Wiener y Fisher-Race.

Un punto fundamental es; si existente o no la relación 1:1 entre las clases de anticuerpos Rh con que un eritrocito se combinará, y los genes determinantes de las especificidades antigénicas responsable de tal combinación, si se considera que son capaces de combinarse con tres diferentes anticuerpos; anti-1, anti-2 y anti-3. Según Wiener la molécula se combina en tres diferentes partes de la misma, cuyas complejas especificidades están determinadas por un solo gen. Fisher-Race, considera que cada anticuerpo se combina con una molécula de antígeno, provista de una sola especificidad determinada por un solo gen (Fig. 9) (Cushing, 1960)

### 6.2.4 Nomenclatura según Rosenfiel.

Este adopta una notación numérica, propuesta principalmente por Murray, enlazada fenotípicamente en reacciones serológicas por lo que los cinco antisueros para el Rh son Rh<sub>1</sub>, Rh<sub>2</sub>, Rh<sub>3</sub>, Rh<sub>4</sub> y Rh<sub>5</sub> representa los cinco antígenos básicos. Como ejemplo si se tiene Rh: 1, 2, -3, 4 y -5 que indican que los eritrocitos son positivos con Anti-Rh<sub>1</sub>, Anti-Rh<sub>2</sub> y Anti-Rh<sub>4</sub> y negativos con Anti-Rh<sub>3</sub> y Anti-Rh<sub>5</sub>. Estos corresponden al fenotipo Rh<sub>1</sub> de Wiener y al CcD/dEe o el CDE/cde de Fisher-Race (CDE) (Tabla 8) (Hardisty, 1974)

Esta nomenclatura es la recomendada por el comité de la International Society of Blood Transfusión (ISBT) para la terminología de los antígenos de los grupos sanguíneos (Avent, 2000)

Los antígenos comunes Rh: D, C/c, y E/e, fueron escritos originalmente en orden alfabético (CDE) pero después, una reorganización de estos antígenos C y E son inherentes en el bloque; el orden cambio a DCE. Aunque el antígeno d, no se ha encontrado se considera como el antitético de D, por lo que la letra "d" es usada como indicador del fenotipo negativo-D. Las formas

Los antígenos comunes Rh: D, C/c, y E/e, fueron escritos originalmente en orden alfabético (CDE) pero después, una reorganización de estos antígenos C y E son inherentes en el bloque; el orden cambió a DCE. Aunque el antígeno d, no se ha encontrado se considera como el antitético de D; por lo que la letra "d" es usada como indicador del fenotipo negativo-D. Las formas que más frecuentemente se presentan son RHCE y RHD, que codifican ocho haplotipos: Dce, dce, Dce, dCe, DcE, dcE, DCE y dCE, conocidos como R<sub>e</sub>, r, R<sub>1</sub>, r<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, r<sub>2</sub>, R<sub>2</sub> y r<sub>2</sub> en su forma corta respectivamente. La letra "R" mayúscula es usada donde el antígeno D es expresado, y la "r" minúscula donde no se presenta. Esta notación se evalúa en la práctica de transfusiones sanguíneas como significado del fenotipo usado en la detección con la cual se indica una carencia de antígenos antitéticos, ejemplo Dc- el eritrocito carece de antígeno E; y D-- estos antígenos carecen del antígeno C/c, E/e; el R<sub>h</sub><sup>was</sup> no expresan ningún antígeno Rh o fenotipo. (Avent, 2000)

El RH30 y RH50 son empleados para describir los genes que codifican para la proteína Rh (RH30) y glicoproteína Rh (RH50); respectivamente donde el número es relativo al peso molecular de las proteínas dentro de un gel de poliacrilamida-SDS. Porque RH30 y RH50 son también relativos a G<sup>2</sup> y antígenos FPTT, respectivamente, se usa al RH como un término genérico para los genes codificadores para las proteínas RhD o RhCcEe (además del conocido RhCE) y emplea al RHGA para el gen codificador de la glicoproteína asociada al Rh (RHGA) (Avent, 2000).



Anticuerpo	Especificidades moleculares de antígeno	Clases de genes	
Wiener A	Anti-1		Un gen responsable de tres especificidades 1,2,3
	Anti-2		
	Anti-3		
Una molécula, tres especificidades			
Fisher-Race B	Anti-1		Gen 1
	Anti-2		Gen 2
	Anti-3		Gen 3
Tres moléculas, cada una con una sola especificidad			Tres genes responsables cada uno de una especificidad

Fig. 9 Representación esquemática de las teorías de Wiener y Fisher-Race. A se observa la teoría de Wiener en donde se ven las tres diferentes especificidades y una sola molécula que las origina, y en B se presenta la teoría de Fisher-Race en donde se presentan las tres especificidades con su respectiva molécula (Cushing, 1960).



Rosenfiel	Rh-Hr	CDE y notaciones diversas	Rosenfiel	Rh-Hr	CDE
Rh 1	Rh <sub>0</sub>	D	27		cE
2	rh'	C	28	hr <sup>A</sup>	
3	rh <sup>*</sup>	E	29	<i>rh<sup>*</sup> Total Rh</i>	
4	hr'	c	30		Go <sup>*</sup> , D <sup>cor</sup>
5	hr <sup>*</sup>	e	31	hr <sup>B</sup>	
6	hr	ce o f	32		Troll, Reynolds
7	rh <sub>1</sub>	Ce	33	R <sub>0</sub> <sup>ce</sup>	Hill, Hawd
8	rh <sup>*1</sup>	C <sup>*</sup>	34	Hr <sup>B</sup>	
9	rh'	C'	35		
10	hr <sup>*</sup>	V, ce <sup>3</sup>	36		
11	rh <sup>*2</sup>	E <sup>*</sup>	37		
12	rh <sup>0</sup>	G	38		Be <sup>*</sup>
13	Rh <sup>A</sup>		39		Evans
14	Rh <sup>B</sup>		40		C-like
15	Rh <sup>C</sup>		41		Tar
16	Rh <sup>D</sup>		42		Ce <sup>1</sup>
17	Hr <sub>e</sub>		43		Craw
18	Hr <sub>0</sub> Hr <sup>*</sup>		44		Nou
19	hr <sup>*</sup>		45		Riv
20		VS, e <sup>1</sup>	46		Sec
21		C <sup>0</sup>	47		Dav
22		CE	48		JAL
23		D <sup>cor</sup>	49		STEM
24		E'	50		FPTT
25		LW	51		MAR
26		Deal (C-like)	52		BARC

Tabla (B) *Nomenclaturas de Rosenfiel, Wiener, Fisher-Race y otras* (Hardisty, 1974)

Para el estudio de los genes Rh se emplean células K562, las cuales tienden a expresarlo mediante la manipulación genética, por medio de un gen transfendo por medio de un rotavirus (Smythe, 1996).

## 7. BIOQUÍMICA DEL SISTEMA Rh

Se han llevado a cabo numerosas investigaciones para aclarar la naturaleza química de los determinantes Rh, todavía no se conoce su estructura exacta. Los antígenos Rh, se encuentran sobre una proteína de 28 Kd, o un glicolípido de bajo peso molecular. Los lípidos de la membrana eritrocitaria presentan apoyo y orientación al determinante Rh, los diferentes fenotipos pueden estar relacionados con la sustitución de aminoácidos de la cadena polipeptídica, así como la expresión respectiva de los determinantes sobre el exterior y interior de la membrana eritrocitaria (Henry, 1993). Es probable que las porciones inmunodominantes sean polisacáridos y que el ácido neuromínico y otros sacáridos comunes formen parte de su estructura. La incógnita importante acerca de cómo se unen estos sacáridos por medio de uniones glucosídicas se está investigando. Estos antígenos son mucho menos numerosos que los antígenos A y B de la superficie del eritrocito (Avent, 2000).

El antígeno Rh que fue aislado en 1982; en personas con eritrocitos Rh D positivos, se encuentran presentes dos genes RHD y RHCE. El término RHCE incluye a los alelos RhcE, RhCe, Rhce y RhCE, en personas D negativo, es suprimido el RHD. Los dos genes aparecen organizados dentro de 10 exones arriba de 75 Kb de DNA, cada uno de ellos codifican para diferentes partes del antígeno Rh, los exones 1-7 codifican para 50-60 aminoácidos, los exones 8-10 codifican los 58 residuos de los carbonos terminales y de las proteínas, el cuarto intrón de RHD contiene una delección de 60 pares de bases (pb.) comparadas con RHCE, los dos genes codifican polipéptidos sin glicosilar, acilación de ácidos grasos, polipéptidos, contenidos en 417 aminoácidos (lo inician metionina y están unidos para la maduración de proteínas) Son considerados homólogos los RhD negativos y RHCE negativos entre sus proteínas codificadoras, de los 417 aminoácidos sólo 36 son diferentes. Del amino terminal los primeros 42 aminoácidos son codificados idénticamente para RHD y RHCE, para el carbono terminal únicamente cuatro de los 84 aminoácidos son diferentes son altamente conservados, algunos codifican para varios alelos del RHCE se tiene una correlación con la expresión del antígeno Rh en el eritrocito (Tabla 9). Las situaciones parciales D; en personas con algunos epitopos pero no todos los epitopos D, dentro de los eritrocitos que pueden ser marcados con anti-D aloimmune, siendo algunos de los niveles moleculares dentro del gen de delección y puntos de mutación, resultando un gen RHD faltante de la codificación de todos los epitopos D (Tabla 10) (Avent, 2000).

Los polipéptidos aislados, no glicosilados del Rh resultan de la pérdida dentro de la integración del antígeno, esto se ha pensado in situ, los polipéptidos Rh son parte de un complejo no covalente incluidos en asociación al término de las glicoproteínas -Rh, (estos son coprecipitados con los polipéptidos no glicosilados) CD47, glicoproteína LW, glicoproteínas B y un componente el cual acarrea al antígeno Fy5. De estos componentes vanos son codificados por diferentes genes Rh y otros proporcionados, estas proteínas no glicosiladas hacen la mejor contribución en la estructura del antígeno Rh (Avent, 2000).

Polipéptidos acarreadores	Aminoácidos en posición							
	16a	36	41	60a	68a	103b	226c	245c
C y e	Cys	Ala	Gln	Ile	Ser	Ser	Ala	Leu
C y E	Cys	Ala	Gln	Ile	Ser	Ser	Pro	
c y e	Trp	Ala	Gln	Leu	Asn	Pro	Ala	Leu
c y E	Trp	Ala	Gln	Leu	Asn	Pro	Pro	
C y Cw		Ala	Arg			Ser		
c y Cw		Ala	Arg			Pro		
C y Cx		Thr	Gln			Ser		
c y Cx		Thr	Gln			Pro		
VS							Ala	Val

a Las diferencias entre C y c dentro de las posiciones 16, 60 y 68 estos son usualmente pero no invariables.  
b Ser 103 en C, Pro en c aparecen invariantes.  
c Asume todos VS+ en las células rojas son c+.

Tabla 9. *Cambios de aminoácidos en el polipéptido CcEe y antígeno correlacionados* (Avent, 2000)

Las proteínas Rh acarreadoras sólo se expresan dentro de la superficie del eritrocito, si esta presente RHAG. La secuencia homóloga de aminoácidos (aproximadamente 40%) de las proteínas Rh y RhAG indicadas dentro de relaciones y colectivamente como la "Familia de proteínas Rh". Perfiles hidrofobicíticos, análisis inmunoquímicos, y datos obtenidos sitios-directos implicando mutagénesis estas proteínas Rh y RhAG tienden a extenderse de un lado a otro de la transmembrana 12 veces con dos botones el amino terminal y el carbono terminal orientados hacia el citoplasma (Fig. 10) (Avent, 2000).

Proteínas accesorias es un término colectivo empleado para otras glicoproteínas que están asociadas con la familia de proteínas Rh, junto a la asociación de la familia de proteína Rh y las proteínas Rh accesorias son llamados complejo Rh (Tabla 11) (Avent, 2000)

Categoría parcial de D	Epitopos presentes de D	Cambios genéticos en RHD	Incidencia Ag. Rh con baja expresión
II	ep D1,3,5,6/7, 8b	nkc	Ninguno d
IIIa	Todos	nkc	Ninguno d
IIIb	Todos	Exon 2 para RHc	Ninguno d
IIIc	Todos	Exon 3 para RHCEe	Ninguno d
IVa	ep D4,5,6/7,8	Exon 3 y probable Exon 7 para RHCEe	Goa (Rh 30)
IVb	ep D5, 6/7,8	Exones 7 y 9 para RHCEe	Rh37f
Va	ep D2,3,4,6/7,8	Exon 5 para RHCEe	Dw (Rh23)
VI.Ig	ep D3,4,9	Exones 4 a 6 de RHD deleción.	Ninguno d
VI.IIh	ep D3,4,9	Exones 4 a 6 para RHCEe	BARC (Rh52)
VII	ep D1,2,3,4,5,6/7,9	T o C sustitución del nucleótido 329 en exon 2 de RHD causando cambio en la proteína 110 Leu-Pro.	Tar (Rh40)
DFR	ep D3,4,9i	Exon 4 para RHCEe	FPTT (Rh50)
DBT	ep D8j	Exones 5 a 7 y tal vez el exon 8 para RHCEe	Rh 32
D o RoHar	Seek	Exon 1 a 4 y 6 a 10 para RhcI	Rh 33 y FPTT (Rh 50)

a Basado en nueve epitopos, ep D1 a ep D9, modelo.  
b Reacciones variables en eritrocitos con anti-D monoclonal aparentemente contra ep D2.  
c nk = no conocido.  
d Todavía ninguno detectado.  
e Alelo de RHCE dándose al exon de RHD, no conocido.  
f Probable pero todavía no probado.  
g Usualmente codificado por cDVI E.  
h Usualmente codificado por CDVI e.  
i Reacciones variables dan eritrocitos con anti-D monoclonal aparentemente contra ep D1.25 y 6/7.  
j Reacciones variables dan eritrocitos con anti-D monoclonal aparentemente contra ep D6/7.  
k Reacciones variables dan eritrocitos con anti-D monoclonal aparentemente contra ep D5 y 6/7.  
l Gen esencial en un RHce alelo convertido por el emplazamiento del exon 5 de RHce con el exon 5 de RHD)

Tabla 10. Categorías de eritrocitos parciales D con diferentes características (Avent, 2000)

PROTEÍNA DEL GEN	ANTÍGENO	LOCALIZACIÓN PARA cDNAs	Mr.	NÚMERO DE ACCESO
Familia de RhD	proteínas Rh D	1p36.13-p34.3 180	30-32 Kd	X63094, X63097, U66341
RhCcEe	Ce, CE, ce, cE	1p36.13-p34.3 180	32-34 Kd	X54534, M34015, U66340
RhAG	Acarreador MB2D10 58	6p21.1-p11	45-100 Kd	X64594
Proteínas LW	Rh accesorias LW	19p13.3 181	37-47 Kd	L27670, L27671,
IAP	Ninguno	3q13 55	47-52 Kd	Z25521
GPB	Conocido 'N', S, s, U	4q28-q31	20-25 Kd	J02982
Banda 3	Diego	17q12-q21 182	90-100 Kd	X77738, M27819

Tabla 11. Proteínas en el complejo Rh en membranas normales RBC, estas pueden estar ausentes o reducidas en el Rh null (Avent, 2000)

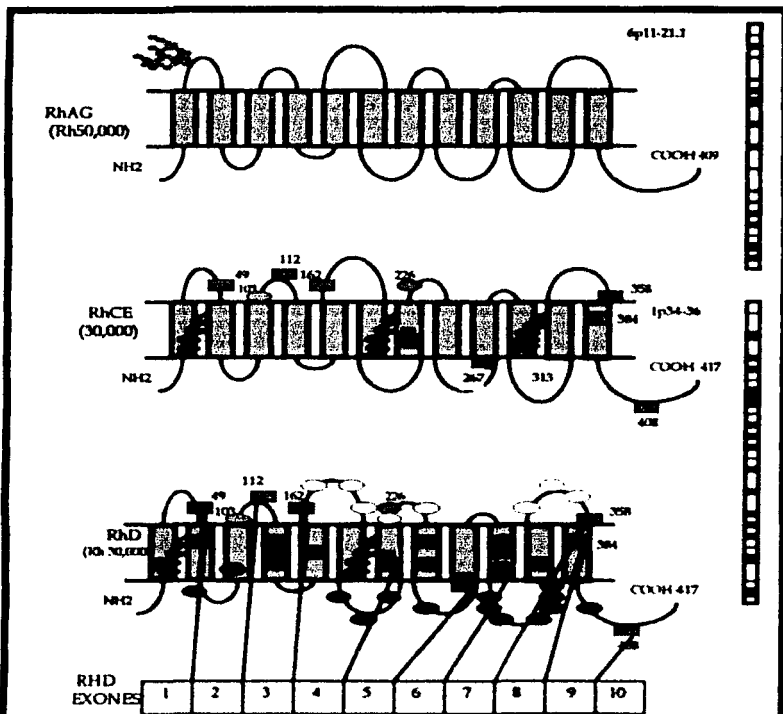


Fig. 10. *Modelo topológico para RhAG, RhCE y RhD*. RhAG (Mr. 50,000) consiste de 409 aminoácidos y está codificado por RHAG dentro del cromosoma 6p11-p21.1 RhCE y RhD (Mr. 30,000) tienen una topología, son predeterminados y codificados por RHCE y RHD los cuales son adyacentes al cromosoma 1p34-p36. El dominio de la proteína RhD codifica para cada exon este representado por cajas numeradas, el cual está representado desde el principio al final de cada exon. De los aminoácidos específicos-D, 8 están sobre la superficie exofacial (óvalos amarillos), y 24 son representen los residuos en la transmembrana y dominios del citoplasma ( óvalos negros). Los óvalos rojos representan los aminoácidos críticos para los antígenos C/c (Ser 103 Pro) y E/e (Pro 226 Ala), los óvalos púrpuras representan Ser 100. Las líneas en zigzag representan la Cys-Lys-Pro son la causa de la probable envoltura de los sitios en la palmitoilación. El amino glicar dentro de la primera curva de RhAG es indicado por la ramificación estructural en círculos rojos.(Aveni, 2000)

## 7.1 Familia de proteínas Rh.

Primero la familia y linajes del locus Rh se encuentran presentes dentro del cromosoma 1, segundo un análisis somático de cuatro células híbridas, hibridación in situ, se localizan los genes RHD y RHCE dentro de 1p36.1-p34 (cromosoma 1, en el brazo corto, región 3, banda 4, subbanda 1, a lo largo de la banda 6); tercero, estudios similares localizaron los genes codificadores de las glicoproteínas Rh en 6p21.1-11 (cromosoma 6, en el brazo corto, regiones 2 y 1, banda 1, subbanda 1, a lo largo de la banda 1), cuatro, estudios de transfección, usando DNA de RHD y RHCE; obtienen la expresión del antígeno Rh por células K562 (Wagner & Fleigel, 2000, A vent, 2000)

Se presenta el genotipo Rh, determinado en los estudios realizados con el DNA, fenotipos que no correlacionan con las pruebas de tipificación dentro de los eritrocitos, indicando que no son expresados en RHD y RHCE (A vent, 2000)

La familia de proteínas Rh es evaluada mediante una ultracentrifugación, empleando una densidad de 170.000 daltons y un tratamiento con dos moléculas proteicas RhCcEe o RhD, estabilizándose por los dominios asociados al amino-terminal (N-terminal) y el carbono terminal (C-terminal), las formas de asociación de estos con el centro del complejo de proteínas Rh accesorias, interactuando directamente con el esqueleto de la membrana, siendo estos restos no identificados (A vent, 2000)

**7.1.1 Proteínas RhD y RhCcEe.** La proteína RhD expresa el antígeno D, al igual que la proteína acarreadora RhCcEe tiene dos antígenos C o c (envuelto en la segunda curva extracelular), E o e (envuelto en la cuarta curva extracelular) (A vent, 2000)

Las características de la proteína RhD (sinónimos: Rh30, Rh30B, Rh30D, D30, polipéptido Rh30 {30Kd}, RhXII, Rh13) y de la proteína RhCcEe (sinónimos: Rh30, Rh30A, Rh30C, RhCe, polipéptido Rh30 {32Kd}, Rh IXB cDNA {RhCE}, Rh21 cDNA {RhCE}, R6A32, Rhce, RhCe, RhCE, RhcE, CcEe) (Tabla 12) (Fig. 10). El análisis primario de la secuencia de aminoácidos (reducción de la cDNAs) muestra hasta el aminoácido 41 del primer amino terminal de RhD y RhCcEe son idénticos y diferentes por sólo los aminoácidos 30-35, a lo largo de la proteína completa. A pesar del alto grado de homología las diferentes proteínas RhCcEe, no se expresan en ningún epitopo D, y las proteínas RhD no presentan los antígenos C o e (A vent, 2000)

Se piensa que las proteínas Rh interactúan con la membrana por medio de acetilaciones con los residuos de ácido palmítico, siendo atacadas las partes de la cadena hacia la Cisteína. Estos residuos de Cisteína son predeterminados, localizados en el citosol y la bicapa lipídica (Fig. 10). Están ordenados Cys-Leu-Pro al lado de cada aminoácido (dos están dentro del RhD y tres en RhCcEe), por estos motivos son posibles otros dos residuos de Cisteína (315 y 316) pueden estar en sitios alternos, estas interacciones pueden aclarar el porque la alteración de la concentración de colesterol en la membrana y los efectos de accesibilidad al antígeno. La capacidad de marcar proteínas Rh con ácido palmítico, indica que esta es una coenzima A

reversible, y adenosiltrifosfato (ATP) dependiente del ciclo de acetilación-desacetilación, ocurre dentro de la maduración de la membrana del eritrocito, la cual es de significado desconocido (Maaskant-Van, 1997).

El grupo sanguíneo Rh es de interés clínico porque los anticuerpos, están involucrados en la respuesta inmune del eritrocito, después de una transfusión con sangre incompatible Rh o en la anemia hemolítica del recién nacido (HDN). Más comúnmente, HDN por anticuerpos maternos directos contra el antígeno RhD, son formados por una aloinmunización de la madre a los eritrocitos del feto después del primer parto, se da si el feto es incompatible con la madre, no obstante comúnmente se usa una profilaxis con inmunoglobulinas Rh, la determinación prenatal del genotipo Rh D ayuda al manejo del riesgo prenatal del feto (Maaskant-Van, 1997).

Las primeras numeraciones acordes a la secuencia codificadora descrita por Mouro et al y Siemsek et al. Primero A4 es definido para la secuencia codificadora de la región del gen RHD. El nucleótido específico de RhD en los primeros oligonucleótidos A7 y A8 son subrayados. Dentro de A10 y A11, los nucleótidos con minúsculas no son parte de la secuencia codificadora. Estos nucleótidos no se encueñan dentro de los primeros numerados. (Tabla 12) A3 y A4 producen 186 pb. Derivadas del gen RHD (Maaskant-Van, 1997, Avent, 2000).

Secuencia de oligonucleótidos	Posición
A1. 5'TGIGTIGTAACCGAGT3' (sentido)	914-956
A2. 5' ACATGCCATTGCCG3' (contrasentido)	1073-1062
A3. 5' TAAGCAAAAAGCTCCA3' (sentido)	1252-1268
A4. 5' ATGGTIGAGATTCTCCT3' (contrasentido)	1437-1422
A5. 5' GCCCTCTTCTGTGGATG3' (sentido)	637-654
A6. 5' TGACCCCTGAGATGGCTGT3' (contrasentido)	768-751
A7. 5' AGCTCCATCATGGCTCAA3' (sentido)	973-992
A8. 5' ATTGCCGGCTCCGACGGTATC3' (contrasentido)	10668-1048
A9. 5' ACCGATACCAGTTTGTCT3' (sentido)	607-624
A10. 5' tagaatcACAGACTACCACATGAAC3' (sentido)	487-504
A11. 5'ataaG:CTTTGGCAGGCACCAGGCCAC3' (contrasentido)	568-547

Tabla 12. *Primeras selecciones de la secuencia de los oligonucleótidos por PCR* (Avent, 2000).

El grupo sanguíneo Rh, abarca un mínimo de 45 antígenos estos son llevados por dos proteínas a la membrana eritrocitaria, codificados por dos genes homólogos, que son RHD y RHCE. El antígeno RhD es un mosaico estructural que comprende un mínimo de 37 epitopos. Al realizarse el arreglo de los genes, se da el punto de mutación en el gen RHD, provocando una pérdida de uno o más epitopos D. En el individuo con fenotipos parciales D puede producir anticuerpos, perdiendo epitopos en la respuesta al transfundir sangre D positiva o por un feto D positivo durante el embarazo, conociendo de esté: D<sup>II</sup>, D<sup>IIIa</sup>, D<sup>IIIc</sup>, D<sup>IVa</sup>, D<sup>IVb</sup>, D<sup>Va</sup>, D<sup>VI</sup>, D<sup>VII</sup>, D<sup>DNu</sup>, D<sup>Ma</sup>, D<sup>HMa</sup>, D<sup>DBT</sup> y R<sub>0</sub><sup>Mar2</sup> (Maaskant-Van, 1997).

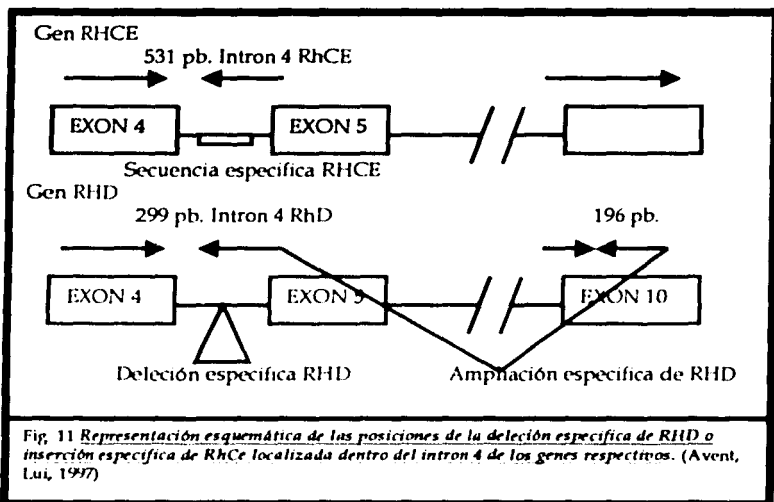


De los fenotipos parciales D<sup>VI</sup>, es la categoría más frecuente que lleva a la aloinmunización, dos genotipos tienden a ser descritos; dentro de tipo de conversión y en la delección. En la primera, los exones 4, 5 y 6 de los genes RHD son remplazados por equivalentes RHCE, sucediendo en individuos fenotipo D<sup>VI</sup> Ccee, son descritos como pertenecientes del tipo de delección en donde los exones 4, 5 y 6 se pierden del gen RHD (Maaskant-Van, 1997).

El locus Rh y el uso del método PCR por medio de una ampliación del intron 4 entre los exones 4 y 5, el primer oligonucleótido A9 en el exon 4 y A6 genómico en el fenotipo Rh, siendo individuos RhD positivos, generan un producto de 1200 y 600 pb, considerando que los individuos Rh negativos sólo producen 1200 pb debido a la delección se carece de las 600 pb (Simsek, 1995)

Este antígeno D está comprendido por un mínimo de 30 epitopos, se localizan fenotipos parciales RhD, donde se encuentra ausente uno o más de estos, con la expresión de restos. Los mecanismos antes mencionados, donde un gen de conversión genera un evento de hibridación en RHD-RHCE, dentro de individuos fenotipo D<sup>VI</sup> Ccee, y segundo ocurre una conversión igual generando hibridación en RHD-RHCE-RHD, esto dentro de individuos fenotipo D<sup>VI</sup> ccEe, el mecanismo causa una delección parcial por el gen RHD, mientras que en el fenotipo cuatro D<sup>VI</sup> Ccee, no crea este una delección parcial en el gen RHD, pero ocurre un mecanismo similar en el fenotipo D<sup>VI</sup> Ccee. Se han localizado en individuos RHD-RHCE-RHD híbridos de las transcripciones de los haplotipos D<sup>VI</sup> Ce y D<sup>VI</sup> eE. Estas diferencias en la transcripción D<sup>VI</sup> Ce son derivadas del gen RHD, se remplazan los exones 4-6 con equivalentes RHCE (Codificando Ala 226); la transcripción D<sup>VI</sup> cE desde un gen RHD, empleando los exones 4 y 5 equivalentes del RHCE (codificando Pro226) (Fig. 11). El esquema del análisis múltiple del RHD, da la posición aproximada muestra la ampliación, las localizaciones de la delección específica del RHD o RHCE, la inserción dentro del intron 4 de estos genes (Fig. 12) (Avent & Lui, 1997)

Se presenta la proliferación en el eritrocito derivado de individuos fenotipo D<sup>VI</sup> usando Mo Abs (anticuerpos monoclonales) con definición específica (Tabla 13) (Avent & Lui, 1997)



Anti. epD	Mo Ab	Eritrocitos	
		D <sup>v</sup> C <sup>cc</sup> e <sup>e</sup> (8512)	D <sup>v</sup> ccE <sup>e</sup> (v1)
ep D1	REG-A	-	-
ep D2	P3x249	-	-
ep D3	HD7	+	+
ep D4	VCHD4	+	+
ep D5	HAM-A	-	-
ep D6/7	RUM-1	-	-
ep D8	p3x2111F1	-	-
ep D9	BRAD-2	+	+

TABLA 13 *Reacciones de proliferación dentro del eritrocito de individuos fenotipo D<sup>v</sup>* (Avent & Lui, 1997).

La expresión del antígeno Rh es posible dentro del polipéptido Rh con isoformas cortas estas uniones suben alternadas en el RNA nuclear heterogéneo Rh (hnRNA) un modelo diferencial de la expresión de RhC o c por una transcripción alternativa de la unión del gen RHCE tiende a proponer a la expresión del antígeno RhE o e, esta localizado dentro del polipéptido Rh propuesto (Fig. 12) (Avent & Liu, 1997). El fenotipo D<sup>v</sup> puede ser asociado con un mínimo de dos tipos de arreglos genómicos del gen D, llamados I y II (Mouro, 1994).

En las variantes del tipo I, es una delección del gen D comprendiendo los fragmentos 4, 5 y 6 del exon, el punto de ruptura esta localizado dentro de los intrones 3 y 6 del gen D, se da frecuentemente la delección parcial del gen; este defecto obtiene más resultados adentro de un cruce único, causado por la recombinación entre regiones intrónicas homólogas (Fig. 13). El residuo producido por la translación del gen D<sup>v</sup>, en la delección del aminoácido 226 de la proteína, carece del aminoácido 151 (calculado Mr. 29.2 Kd); en comparación con el aminoácido 417 del polipéptido D normal (Calculador Mr. 45.5 Kd). Sin embargo el polipéptido acortado puede no ser separado la expresión normal del polipéptido Rh de varios fenotipos, migrando todo con un Mr. de 32 Kd aparentemente. Esta observación puede explicar que proteínas Cc y Ee son trasladadas, diferentes uniones se transcriben en isoformas el gen Cee, uno de los cuales carece precisamente de los exones 4, 5 y 6 (Mouro, 1994).

En las variantes de tipo II, el gen D<sup>v</sup> se identifica, los exones 4, 5 y 6 están presentes pero acarreados por una restricción anormal mediada en el fragmento. La secuencia analizada del cDNA indicada para esta región de la codificación en transcripción del D<sup>v</sup> por estos tres exones correspondientes a los mRNAs del no-D, y con más precisión del producto de transcripción alélico Cc o ce. Acorde a la presencia de un residuo de Alanina asociado al polimorfismo E/e en la posición 226, se desplaza al segmento del DNA del gen D de los exones 4, 5 y 6 de esta variante por la región equivalente del gen CcEe tienen secuencias relativas, asumiendo esto al momento de transferirse el DNA ocurre después en el cromosomal entre los dos genes Rh durante la meiosis (Fig. 14), si el híbrido resultante "D-CcEe-D" es el producto de un intercambio dentro de un cruce doble una combinación entre el gen CcEe (como donador) y el gen D (como receptor) (Mouro, 1994).

El gen SMP1 contiene aproximadamente 30,000 pb. El gen RHD esta flanqueado o en vuello por dos segmentos de DNA, dobles cajas Rhesus, con una longitud de aproximadamente 9000 pb, 98.6 % homólogos y orientaciones idénticas. La caja Rhesus RHD contiene la delección ocurre dentro de 1463 pb (Wagner & Flegel, 2000).

Los dos genes, RHD y RHCE tienen orientación opuestas y volviéndose una contra el otro, tienen 30,000 pb y son homólogos en más del 90% de la identidad (Wagner, Fröhmer, 2001) esto en el 3' final la distancia física entre ambos de 30,000 pb y se llenan con una caja Rhesus y haplotipos prevalentes RHD negativos son localizados en las 1463 pb idénticas en la región de las cajas Rhesus. El gen RHD tiene como borde las dos cajas Rhesus altamente homólogas (Wagner & Flegel, 2000).

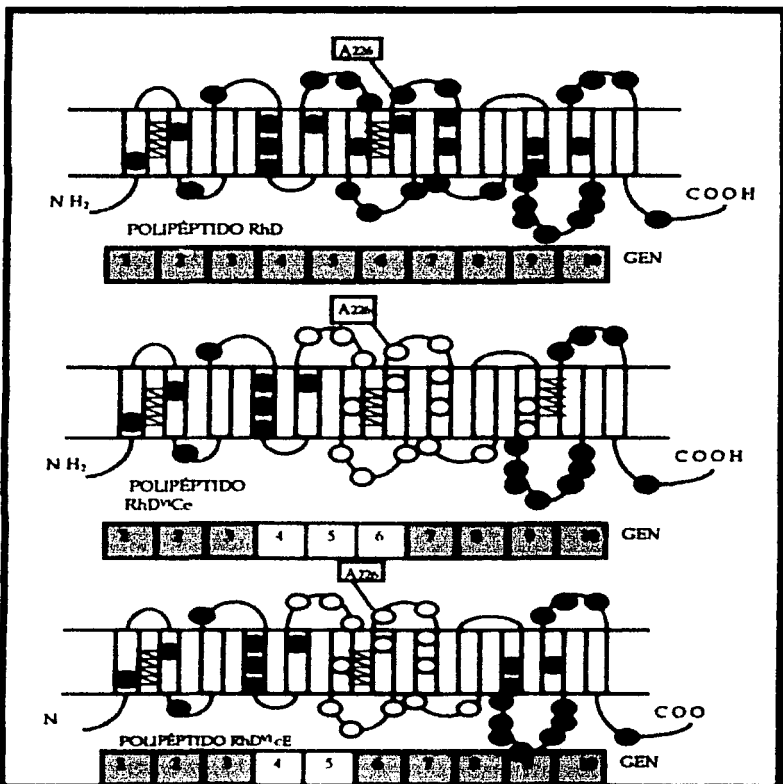


FIG 12. *Representación esquemática de la topología de los polipéptidos RhD, RhD<sup>C</sup>E y RhD<sup>M</sup>CE.* Un proceso topológico de las proteínas RhD es ilustrado, basado en el análisis hidropático y estudios químicos de proteínas. La proteína RhD tiene 35 o 36 aminoácidos diferentes de la proteína RhCE, y estos están altamente iluminados representados en la figura con círculos negros, el gen que genera esta conversión en el fenotipo D<sup>M</sup> resulta del remplazamiento de los residuos RhD con la contraparte RCE. El residuo envolvente esta indicado dentro de la proteína D<sup>C</sup>E y D<sup>M</sup>E en la figura como círculos blancos. La presencia de las cuatro ondulaciones externas dentro de toda la proteína están indicados, como una fuente tal que las diferentes secuencias de proteínas de estos dominios entre la proteínas D<sup>C</sup>E y D<sup>M</sup>E (Ala226Pro). El sitio de palmitilación (en motivo Cys-Leu-Pro) de las proteínas se ilustra en la figura por líneas en zigzag. La organización genómica de los genes RHD y el híbrido RHD son representados abajo de cada topología predeterminada. Los exones derivados RhD son representados por cajas negras dentro de la figura y los no derivados en cajas blancas. (Avecl, Lui; 1997)

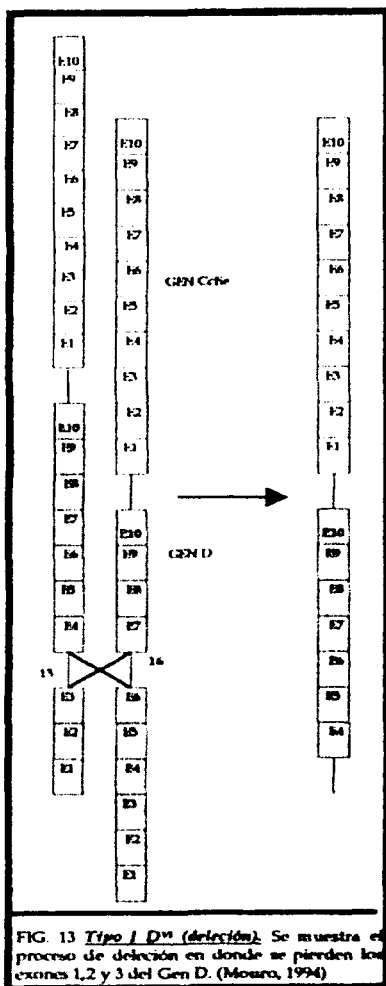


FIG. 13 Tipo I  $D^m$  (delección). Se muestra el proceso de delección en donde se pierden los exones 1, 2 y 3 del Gen D. (Mouro, 1994)

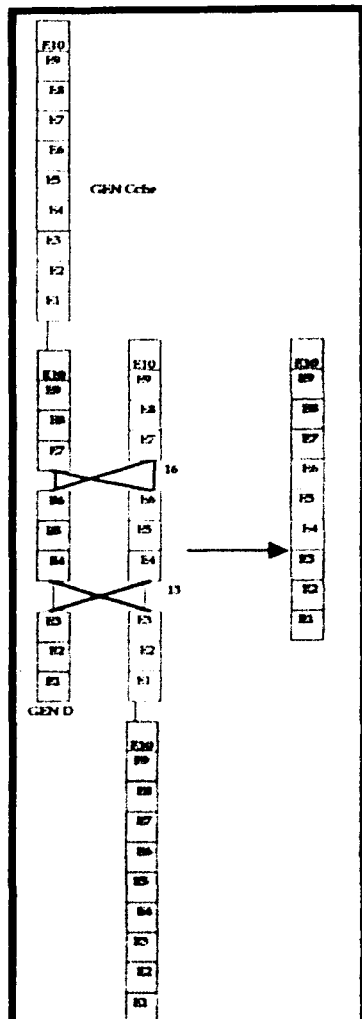
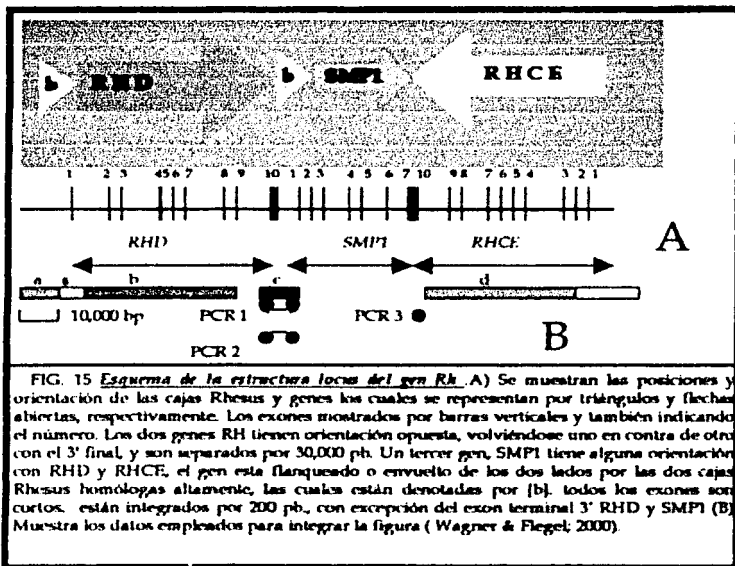


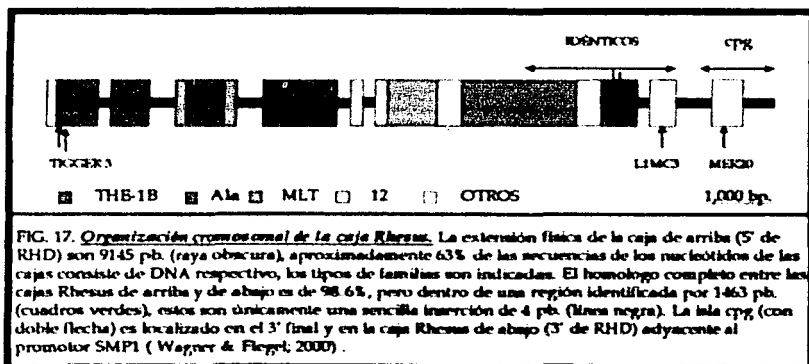
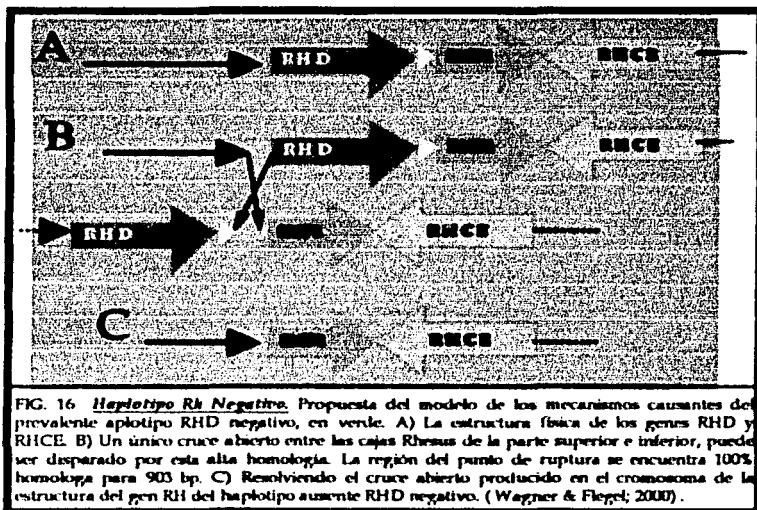
FIG. 14 Tipo II  $D^m$  (468). Se muestra el efecto de mutación donde se intercambian los exones 4, 5 y 6 del gen Ccbe al gen D, sin que este presente una modificación (Mouro, 1994)

Basándose dentro de la estructura del locus del gen RHD (Fig. 15) se hacen las propuestas de los eventos de delección del gen RHD (Fig. 18).



La delección se explica como un único cruce abierto disparado por la alta homología de las cajas Rhesus que comprenden el gen RHD. La región del punto de ruptura la comprenden 903 pb de las cajas, localizadas en una extensión de 1463 pb de 99.9 % homológicamente semejantes a THE-1B y un L2 repetitivo en el elemento del DNA (Fig. 17) (Wagner & Flege, 2000)

Interesantemente los segmentos de DNA con más de 60,000 pb están doblados en el haplotipo RHD negativo, el cual consiste únicamente de un contenido de todas las secuencias de este en un haplotipo RHD positivo duplicado. Hay tres genes localizados en el locus RH: RHD, RHCE y SMP1. Los genes homólogos, tienen una lectura abierta dentro del cromosoma 21, esta es la posición entre los dos genes RH, implicando un polimorfismo del gen SMP1 observando un supuesto haplotipo hermético específico (Wagner & Flege, 2000)



La conservación del gen puede también involucrar al intron 2, ocurriendo en Cis, llevándose durante la formación de la horquilla, la cual es favorecida por los rearrreglos en las agrupaciones del gen. El análisis detallado incluye el polimorfismo del intron, mostrándose por el primer grupo de alelos (probables

híbridos RHD/CE) representando un mínimo de nueve eventos moleculares diferentes, la proximidad y la orientación inversa de los dos genes Rh favorecen la conversión del gen en Cis, también tienden a ser mostrados en un D parcial. Una definición exacta de las bases moleculares de los híbridos RHD/CE concede una detección específica, igual en la posición Trans es regulada por el alelo RHD. Una determinación será necesaria, si el testigo molecular cigótico Rh, es destinado para realizar una predicción idéntica al antígeno D (Fig. 18) (Wagner & Frohnajer, 2001).

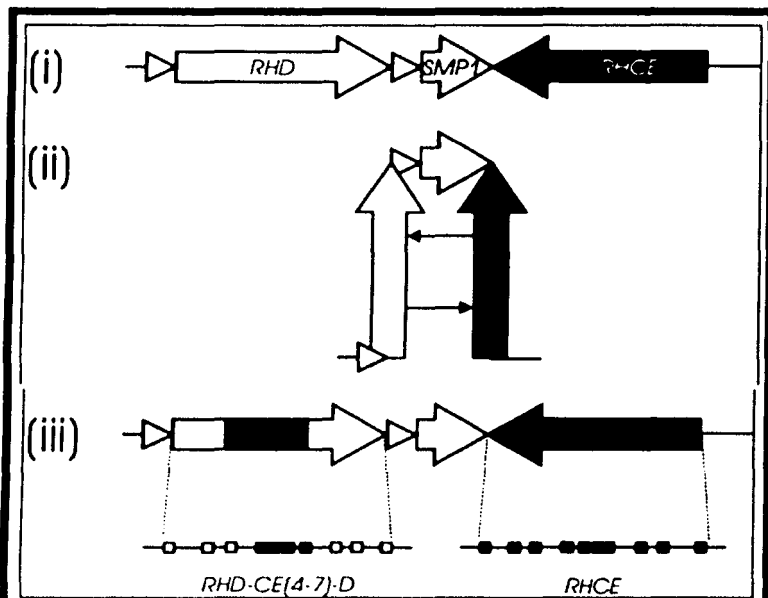


Fig. 18 *Mecanismos de conversión del gen RH en Cis*, i) los genes RHD y RHCE son orientados inversamente como típicas agrupaciones, u) un punto en la horquilla al formarse el cromosoma, da la proximidad de los segmentos homólogos, en orientaciones idénticas, esta estructura es característica siendo un instrumento para los eventos de conversión en Cis, iii) al deshacerse la orquilla se produce una estructuración híbrida del gen RHD-CE-D, muchas de las cuales tienden a ser observadas en el locus del gen RH. Como un ejemplo, la estructura del gen híbrido RHD-CE(4-7) D es mostrada (Wagner & Frohnajer, 2001).



## 7.2. Rh asociado a glicoproteínas.

Las características del RhAG (Tabla 13) (Fig. 11). Uno de los dos sitios N-glicano están glicosilados, un tercer sitio predeterminado dentro del citoplasma y, no es accesible la glicosilación. Los antígenos ABH acarrean N-glicano, pero RhAG no se conoce que posee un polimorfismo en la proteína base del grupo sanguíneo. Basándose dentro de una secuencia de aminoácidos predeterminados, dentro de RhAG son 39.2 y 38.5 % idénticas, a las proteínas Rhce y RHD, respectivamente (Avent, 2000).

Rara vez individuos carecen de todos los antígenos Rh; siendo Rh null (nulos) y callados, más se codifican como tipos reguladores amorfos, se atribuye más a una mutación en el gen RH50, el cual es independiente del locus RH. El gen RH50 codifica una glicoproteína la cual interactúa con las proteínas Rh de forma funcional dentro del complejo de la membrana del eritrocito (Hyland, 1998)

La secuencia de las clonas cDNA desde un mRNA en Rh50 revelan un cambio sencillo de la base (G836A) produciendo un envío o sin conservar (Gly 279 Gluc) dentro del dominio hidrofóbico produciendo una mutación para esta proteína de membrana, se encuentran secuencias propuestas de Rh null teniendo un componente heterocigótico por mutación, llevando los alelos con él A y G en el nucleótido 836 respectivamente, estando presentes sólo A836, con lo que se sugiere que el segundo alelo con G836 es aparentemente silencioso (no detectado en la transcripción) (Hyland, 1998)

Esta mutación de los nucleótidos G -> A ocurre en la transición en la posición Trans; en diferentes regiones blancas de las dos copias del gen Rh, en 836 se localiza el envío cambiado el exon 6, está la conversión Gly dentro de Gluc en la posición 279, un aminoácido central del segmento transmembranal 9 (TM9) se encuentran los dos alelos presentes 836A (Gluc 279) y 836 G (Gly 279). Esto da una nueva visión dentro de la diversidad de la enfermedad Rh null y sugiere que la región C-terminal del Rhc, participa algo más en la interacción de formación, en la envoltura del complejo proteico Rh (Hyland, 1998)

Al realizarse la organización del alelo Rh50 en el sitio donador (836G) creándose un defecto, causado por una mutación G -> A en los elementos invariantes GT del intron 1, con un fenotipo silencioso en la copia Trans, la carga negativa en la proteína de envío con el polipéptido Rh30 (Hyland, 1998)

Las familias estudiadas que muestran este fenotipo Rh null, es a menudo desplazada por homocigotos dando una mutación, transmitiendo dentro del último término consanguíneo, sin embargo, la forma de regular Rh null es resultado de un componente heterocigoto en el gen RH50. El Rh null (TB) aparece como un caso observado, aunque el defecto exacto en una o dos copias del Rh50 no se tiene definido, al caracterizarse el doble regulador heterocigoto, este muestra Rh50 llevando una mutación en la unión del donador y enviandola, las dos encontrándose en Trans o se observa la expresión de otro modo de un tipo extraño de alelo, siendo heredado de los

padres, es algo evidente que tiendan a contribuir al fenotipo null, con ninguno de los antígenos o proteínas Rh, Rh30 y Rh50 se detecto en la membrana del eritrocito. Se encuentra un modelo molecular, en el cual la mutación afecta cada RH50 esto en diferentes niveles de expresión del gen (Fig. 19) (Hyland, 1998; Huang, 1998).

Los intrones de transición los elementos invariables GT de la unión del donador estos procesos directos en el exon 1 de G -> A en los residuos, y se define un defecto en la unión postranscripcional, varias líneas de evidencia indican que esta mutación se encuentra presente en el alelo Rh50 (836G) desde uniones funcionales en células Rh null como son:

- 1) No aberrante (considerando truncado o enlogado) en formas contenidas en cDNA son detectados 836G.
- 2) Secuencias directas mostrando únicamente la expresión del alelo 836G (Gluc 279).
- 3) Cuatro independientes clonas de cDNA son mostradas por el análisis SSCP no derivado desde el alelo 836A, y no el alelo 836G.

Con vida media del hnRNAs es completamente corto, el fracaso de desunión del intron 1 causando por la inactividad del donador el sitio puede ser llevado más rápido a una degradación en la mutación del pre-mRNA (Fig. 19). Esto en contraste de la mutación G -> A en la unión del donador del intron 7 estos resultados en el exon saltan y producen un corto mRNA en otro paciente Rh null regulador (Huang, 1998)

En la enfermedad al medirse los genes relacionados en la unión del RNA, ocurren más mutaciones en los elementos invariantes en el donador GT y el receptor AG, estas causan un efecto de salto en el exon y en algunos casos más llevan uniones aberrantes para activación de sitios de unión ocultos. Las mutaciones en la unión del donador; se encuentran primero envuelto en múltipases del gen, segundo se localiza en los genes  $\beta$ -globina de la talasemia humana esta suprime en su totalidad la producción natural de los mRNAs. Estas comparaciones sugieren que la mutación en la unión del donador se da en el intron 1, teniendo un mayor efecto en los intrones internos del procesamiento del pre-mRNA. En realidad, el mecanismo rige la unión de los exones 5' de un gen no son plenamente entendidos como multiexon; esta ofrece más un modelo interesante del extremo 5' del exon a nombre de un repaso y es considerada esta unión de transcripción en pares (Huang, 1998)

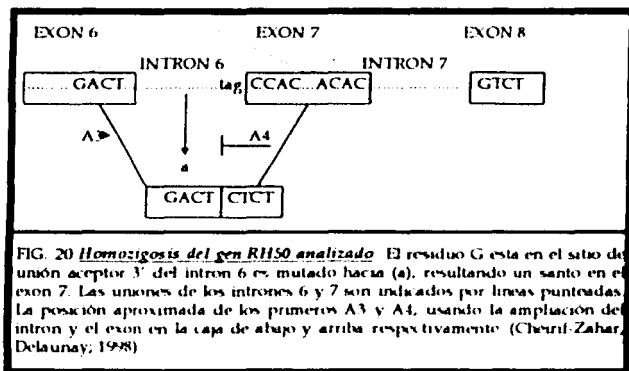
Como se muestra, el alelo envía 836A se expresa como una transcripción anormal de unión. Dando esta localización, el punto de mutación impidiendo la iniciación o la translocación. Así, esta pérdida de función es más probablemente relativa en Gly<sup>279</sup> ---> Glu, causando alguna la oportunidad en el defecto de eventos postranscripcionales (Fig. 19), Gly<sup>279</sup> es predeterminado falsamente en el centro de TM9 de la proteína Rh50, y este es reemplazado con una carga negativa, a la ruptura hidrofóbica continua de TM9 de la pesada Glu. Esta perturbación algo más que suficiente para causar una oportunidad conformacional, rompiendo la unión del Rh30 y Rh50 como un complejo en la membrana celular (Huang, 1998)



Segundo Glu<sub>279</sub> transmite más el envío del defecto en la proteína celular, esto se ve en el conducto regulador de membrana fibrosítica Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) y la mutación acuaporin-2. El tercero, contiene la mutación Glu<sub>279</sub> el mismo y la proteína Rh30 convenientemente vulnerable a la proteólisis si este le faltara una forma estable, doblándose correctamente el complejo El complejo Rh con la oportunidad del envío en la mitad del C-terminal del Rh50 (Huang, 1998)

El gen en el paciente Rh null, es alterado por medio de las mutaciones con más probabilidad hacia una carencia o reducción severa de la expresión en la superficie del eritrocito de la glicoproteína Rh50. Siendo estas proteínas las más esenciales para la expresión de los antígenos Rh dentro del eritrocito: otras mutaciones que afectan a diferentes sitios de unión en el gen RH50 (Chérif-Zahar & Delaunay, 1998)

Se encuentra la homocigosis para la transición G -> A en la base invariable del sitio de unión aceptor 3', los cuales llevan un salto de la superficie baja del exon 7 ( Fig 20) (Chérif-Zahar & Delaunay, 1998)



La presencia de un sitio de unión potencialmente oculto en las regiones del intrón 6 o del exon 7, que se dirige afuera por un factor no detectado: la terminación prematura de la transcripción da un cambio estructural y conformacional de la proteína. Realmente, la predeterminación de la proteína truncada está supuestamente a lo largo del aminoácido 35 (proteína normal Rh50 para los 409 residuos) incluyendo una región C-terminal que contiene 36 nuevos aminoácidos, la secuencia predeterminada da una orientación inversa de la región C-terminal, la cual es expuesta extracelularmente. Sin embargo esta proteína no está presente en la superficie del eritrocito, esta proteína es

La homocigosis se asocia al fenotipo con algunas carencias o reducciones de la expresión de las glicoproteínas (Rh50, CD47, LW y glicoforinas B), las cuales interactúan con el polipéptido Rh al formarse el complejo de multisubunidades Rh de la membrana. Se localizan dos mutaciones, en la primera mutación, se localiza en el sitio de unión del donador en el intron 4, el cual induce la activación de dos sitios de unión críticos dentro de este intron y un sitio similar en el exon 4, generándose una total transcripción aberrante (Chérif-Zahar & Delaunay, 1998; Chérif-Zahar & Mempel, 1998; Sujama, 1999).

El segundo tipo afecta la región del código e introduce un cambio en el esqueleto y un prematuro resultado en el codon stop, en la predicción de la proteína corta (residuos 398 u 417), incluyen una diferencia completa de 76 aminoácidos del C-terminal con lo cual se sugiere que esta proteína es plegada y da una interacción proteína-proteína, mediadas por el dominio C-terminal de las proteínas Rh (Chérif-Zahar & Mempel, 1998).

Otro caso ocurre en la posición crítica del sitio de unión 5' del intron 1 en el gen RH50, por competencia e inactivas uniones. La mutación es canónica de los dinucleótidos GT del sitio de unión del donador, después del proceso del RNA y causa severos defectos en la unión, esto afecta al mRNA del Rh50 existiendo una carencia; acontece más por la inestabilidad y la degradación consecuente de la unión errada del RNA en el núcleo de inclusión del dúo de intrones 1 dándose en ambos (aproximadamente 17.7 Kb) y/o la aparición prematura de un codon stop, reduciendo los niveles de mRNA, asociándose la unión y terminación prematura del codon, reportándose para los alelos como una mutación severa (Chérif-Zahar & Mempel, 1998).

Los individuos con el síndrome silencioso en la deficiencia del Rh, se caracterizan por la anemia hemolítica crónica con severidad variable, mostrándose esferocitos y esferocitos, incrementa la fragilidad osmótica, altera el transporte de cationes y una anormal organización fosfolipídica. El fenotipo Rh null es generalmente distinguido dentro de dos reguladores y tipos amorfo callados o silenciosos. El tipo regulador, es el más común dentro de los RH null, es causado por la homocigosis de un gen autosomal raro ( $X^o$ ), responsable para el fenotipo supresor de la expresión del antígeno Rh, diferente del locus Rh dentro del eritrocito. Se han diferenciado del fenotipo la base molecular e identificando seis diferentes alelos mutantes del gen RH50, lo que se considera el más probable candidato supresor del gen (Chérif-Zahar & Mempel, 1998).

El tipo amorfo es raro y alto desde la homocigosis de un alelo amorfo silencioso del locus Rh en el cual el gen RHD esta ausente. En contraste, el locus Rh se compone más de uno de los genes en el fenotipo regulador Rh null (Chérif-Zahar & Mempel, 1998).

La mutación del sitio de unión de 5' del donador lleva una g- a t del intron 4, la transcripción del Rh esta indicada por tres sitios mínimos de unión críticos, son inactivados como resultado, dos de estos sitios generan una incorporación de 11 y 16 nucleótidos de la transcripción del intron 4. Esta inserción es la que causa un codon stop prematuro en t1 y t2 ( en las regiones de transcripción

correspondientes al exon 7 y exon 5, respectivamente) pero no en la transcripción t3, porque el salto de la región del exon 5 forma el resto de la lectura. La transcripción t4 es detectada en todo el fenotipo. La activación del sitio tres de unión crítico genera la transcripción t5, la existencia de esta transcripción tiene la inconsistencia con el dato previo de la transcripción normal Rh. Ambas transcripciones anormales y/o la ruptura pausada de las proteínas se degradan dentro de las células (Chéinf-Zahar & Mempel, 1998)

El alelo silencioso; el cual corresponde al haplotipo dce, es causado por la mutación dentro del intron 4 en el sitio de unión, otra se da en la transcripción Rh llevada por un nucleótido cambiado TCA --> C en el exon 7 en el gen RHCE, esta alteración única se encuentra en la cDNA Rh, y esto es probable en la expresión del antígeno Rh estando carente (Chéinf-Zahar & Mempel, 1998)

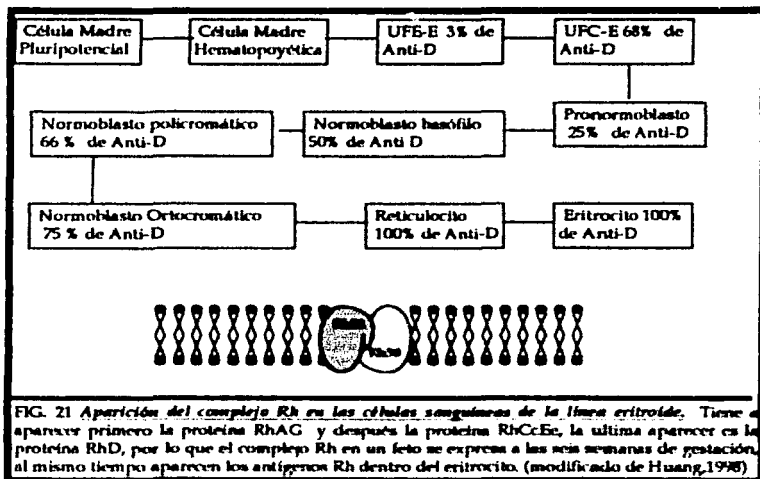
La mutación del gen RHCE introduce un cambio en el esqueleto en la transcripción, pero estas no son razones obvias para que el mensaje, sea correctamente unido; no muestra la translocación de la proteína Rh dentro de la variante, predeterminada esta en el aminoácido 398-(u 417) de la proteína, incluyendo una completa diferencia de 76 aminoácidos en el C-terminal, y organizado dentro del dominio 10 de la transmembrana, en vez del doce. El punto de mutación en la proteína tiene por esto más de un diferente Rh, cambiado rutinariamente la superficie celular, alternamente, la carencia de la expresión en la superficie celular resulta más desde un defecto proteína-proteína interaccionando normalmente por el C-terminal final de las proteínas Rh (Chéinf-Zahar & Mempel, 1998)

La interacción entre proteína-proteína Rh y Rh50 es esencialmente para la reunión y/o el transporte del complejo Rh la membrana, esta involucra las regiones N-terminal de las dos proteínas; sin embargo la mutación concierne a la proteína mutante Rh del gen RH50 en el fenotipo regulador Rh null en el punto crítico del C-terminal en el procesamiento de las dos proteínas (Chéinf-Zahar & Mempel, 1998)

### *7.3 Expresión de proteínas Rh y RhAG durante la eritropoyesis.*

Los antígenos Rh aparecen durante la primitiva diferenciación de la eritropoyesis. En las células BFU-E o UFE-E (célula formadora del estallido enteroide) se une un 3% de anti-D, 68% en las células CFU-E o UFC-E (unidad formadora de colonias enteroide), y totalmente en la célula madura enteroide. Sin embargo, la unión del anti-D dentro del promonoblasto, entoblasto basófilo, normoblasto policromático y normoblasto ortocromático, se da 25%, 50%, 66% y 75% respectivamente comparado con la maduración del eritrocito. La proteína RhAG es detectada dentro del progenitor CD34 aislado desde el cordón sanguíneo, después de 3-5 días de cultivo, en los 5-7 días aparecen RhCcEe y de 9-11 días después aparecen RhD. En el feto los antígenos Rh son expresados dentro de las seis semanas de concepción dentro del eritrocito (Fig. 21) (Avent, 2000)

cordón sanguíneo, después de 3-5 días de cultivo, en los 5-7 días aparecen RhCcEe y de 9-11 días después aparece RhD. En el feto los antígenos Rh son expresados dentro de las seis semanas de concepción dentro del eritrocito (Fig. 21) (Avent, 2000).



#### 7.4 Posible función de la familia de proteínas Rh.

La función del complejo Rh no es muy clara. La proteína Rh tiene aproximadamente 20% de homología con la permeasa de transporte metilamina (Mep), permeasa de transporte de amonio (Amt) en levaduras, bacterias y plantas simples. Estas familias de transporte son uniportadores que están envueltos en una concentración de sales de amonio que los rodea. Los animales superiores usan más el complejo nitrógeno, y estos eliminan toxinas de amonio vía ciclo urea y transportándolo en forma de Glutamina y Alanina. El papel del complejo Rh como un dedicado transportador de amonio diferente al que realizan células unicelulares, pero el complejo puede cotrasportar el amonio por otros cationes (Fig. 22) (Avent, 2000)

El Rh es asociado al movimiento de la fosfolipasa a través de la membrana por medio de una translocasa mantiene la asimetría de los lípidos formando un complejo con un ATPasa o proteína quinasa (Mezzano, 1997)

El orden de Cys-Leu-Pro al lado de cada aminoácido localizando dos en RhD y tres en RhCcEe, haciendo posible otros dos residuos de Cisteína, en sitios alternos a los normales estas interacciones pueden ser las causantes de

la concentración de colesterol en la membrana y los efectos de accesibilidad al antígeno ( Maaskant-Van, 1997).

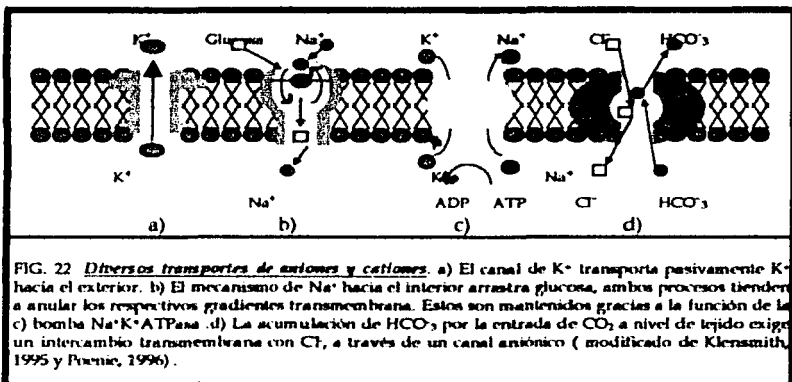


FIG. 22 *Diversos transportes de iones y células.* a) El canal de  $K^+$  transporta pasivamente  $K^+$  hacia el exterior. b) El mecanismo de  $Na^+$  hacia el interior arrastra glucosa, ambos procesos tienden a anular los respectivos gradientes transmembrana. Estos son mantenidos gracias a la función de la c) bomba  $Na^+K^+ATPasa$ . d) La acumulación de  $HCO_3^-$  por la entrada de  $CO_2$  a nivel de tejido exige un intercambio transmembrana con  $Cl^-$ , a través de un canal aniónico ( modificado de Klensmith, 1995 y Poenie, 1996).

Al marcarse el Rh con el ácido palmítico indica que es una coenzima A reversible y adenosilnitrato dependiente del ciclo de acetilación-desacetilación, llevándose dentro de la maduración del eritrocito. ( Maaskant-Van, 1997) Otras posibles funciones se realizan junto con las proteínas accesorias al Rh las cuales son mencionadas a continuación.

### 7.5 Proteínas accesorias Rh.

Los antígenos sanguíneos asociados con la familia de proteínas Rh, al gen de localización; de estas masas moleculares, número de copias por eritrocito, y el número de acceso, se les conoce como proteínas accesorias Rh (Avent, 2000)

**Glicoproteínas LW:** Las glicoproteínas LW (sinónimos: ICAM-4) es un sencillo pozo (tipo Y) de proteínas de membrana con homología ha adhesión intracelular de la molécula (ICAMs), los cuales son logrados por integrinas  $\beta_2$ , tienen a reportarse un ligando LW por la integrina LFA-1 (sinónimos:  $\alpha L\beta_2$ , CD11a/CD18) (Avent, 2000)

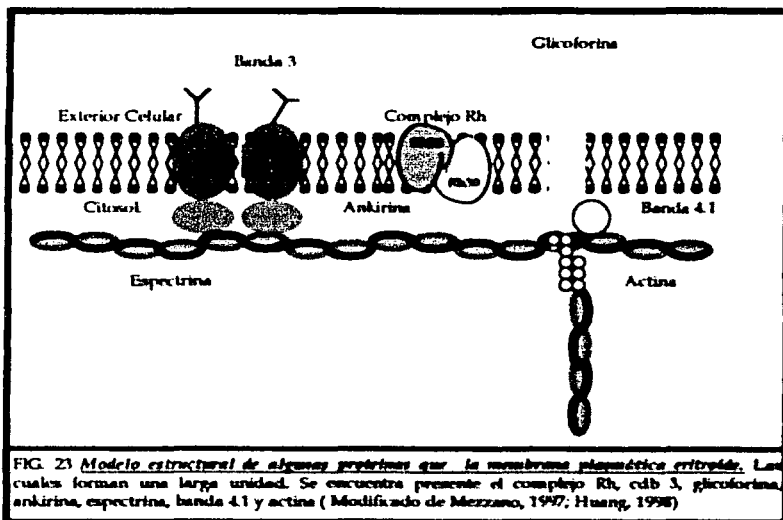
Se encuentran ausentes en individuos Rh null los eritrocitos son LW (a-b-), pero también la expresión del antígeno Rh es normal si los eritrocitos son LW (a-b-). Los antígenos LW son más abundantes dentro de los eritrocitos adultos D-positivos, mas que en los D negativos, el cual lleva a la interacción inicial de estos anti-D y anti-LW; esto es posible en interacciones de glicoproteínas LW con el complejo RH comparado con el complejo RhCcEe. Interesantemente, los antígenos LW son expresados igualmente dentro del feto y el recién nacido (Avent, 2000).



**Proteínas asociadas a Integrinas.** Proteínas asociadas a integrinas de isoformas dos (IAP; sinónimos: CD47, Glicoproteínas BRIC 125, antígenos DAB, ID8) están presentes en la membrana del eritrocito; predeterminados a pasar a lo largo de la membrana 5 veces, tiene seis potenciales N-glicanos. (Avent, 2000)

IAP lleva antígeno ABH pero no se conoce la proteína base del antígeno sanguíneo, tiene diferentes isoformas en varios tejidos donde están ligados a integrinas, pero se unen a trombospodina y esta envuelto en el transporte de calcio, posiblemente como un canal portal, la cantidad es reducida en la membrana del eritrocito de RH null y gente D-, este se presenta en niveles normales en líneas celulares linfoblastoides de estas personas (Avent, 2000)

**Glicoforina B.** La glicoforina B (GPB, sinónimos: Ss sialoglicoproteína (SGP), S-SGP, PAS-3) es una glicoproteína de membrana de tipo 1 esta tiene O-glicanos pero no N-glicanos. El complejo Rh ayuda a la presencia, pero no es esencial para la correcta inserción del GPB en la membrana. En eritrocitos S-s-U- que carecen de GPB, y las proteínas Rh son aparentemente normales, pero RhAG tienen incrementadas glicosilaciones, sugiriendo una migración a lo largo del retículo endoplasmático y aparato de Golgi. Una interacción de GPB y RhAG es requerida para la expresión total del antígeno U y los antígenos S y s. GPB más la unión del complejo Rh, con la banda 3 y GPA, forman una larga unidad en la membrana del eritrocito ( Fig. 23 ) (Avent, 2000).



**Glicoproteína Fy.** Una posible asociación entre la glicoforina Fy (sinónimos: Duffy, DARC) y el complejo Rh es indicado por el antígeno Fy5, el cual esta ausente en Fy (a-b-), y eritrocitos Rh null. Sin embargo, normalmente tiene antígenos Fya, Fyb, Fy3, y Fy6; y en los eritrocitos Fy (a-b-) normalmente tienen el antígeno Rh (Avent, 2000).

**Banda 3.** La membrana del eritrocito es un modelo primario para las membranas plasmáticas de las células animales. Una de estas es la organización mayor del dominio central citoplasmático de la banda 3 (cdb3) (sinónimos: AEI, Cambio de anión, Miembro 1 del cambio de anión del soluto de la familia acarreadora 4), la cual une a múltiples proteínas de membrana, sumándose las proteínas periféricas ligadas a membrana, incluyendo Anquirina, la mayor unión dentro del esqueleto espectrina-actina, proteína 4.1, proteína 4.2, aldosa, gliceraldehído-3-fosfato dehidrogenasa, fosfofructocinasa, deoxihemoglobina, p72syk, proteína tirosincinasa y hemicromos. Un dímero hermético simétrico es formado por cdb3, estabilizado por interacciones de brazos dimericos constituidos por dos monómeros; cada subunidad también incluye una larga proteína periférica formando un puente con el dominio  $\alpha$ - $\beta$  plegados. El puente forma severos sitios de proteínas periféricas, se localizan en la estructura, y en mayor parte en el cambio conformacional natural. Esta regulando la evaluación de la interacción membrana-esqueleto (Fig. 23) (Zhang, 2000)

La membrana del eritrocito esta constituida primordialmente por la proteína espectrina-actina conectada al esqueleto en intervalos reguladores de las proteínas integrales de membrana, cdb 3 y glucoforina C; las proteínas via puente, anquirina y proteína 4.2. Debido a que es difícil de aislar, es de arquitectura simple y composicionalmente relacionada a muchas otras membranas, esta se presenta como un modelo de las membranas plasmáticas animales en textos de bioquímica (Zhang, 2000)

Sin embargo, la cdb 3 constituye el polipéptido más abundante, que comprende el 25% del total de las proteínas, nombrándola el anión cambiante (AEI), como parte de los dominios estructurales independientes, estos conservan las características funcionales de los dominios intactos en las proteínas. El dominio de 55 Kd atraviesa la membrana bilateralmente a lo largo en forma transversal doce veces y sirve de anión catalizador cambia principalmente el  $\text{Cl}^-$  por  $\text{HCO}_3^-$ , durante el transporte de gas en la sangre a través de la membrana (Fig. 24). El dominio atraviesa la membrana además interviniendo en el envejecimiento del eritrocito por la circulación y esto se demuestra lleva un número común de antígenos (Zhang, 2000)

El dominio citoplasmático de la cdb3 primariamente funciona como un sitio sujetador por las proteínas asociadas a la membrana. Cada interacción tiene consecuencias para la estructura y función no trivial de la célula, incluyéndose con el control de flexibilidad y forma celular, regulación del metabolismo de glucosa, transporte de iones y salvando la vida celular (Zhang, 2000)

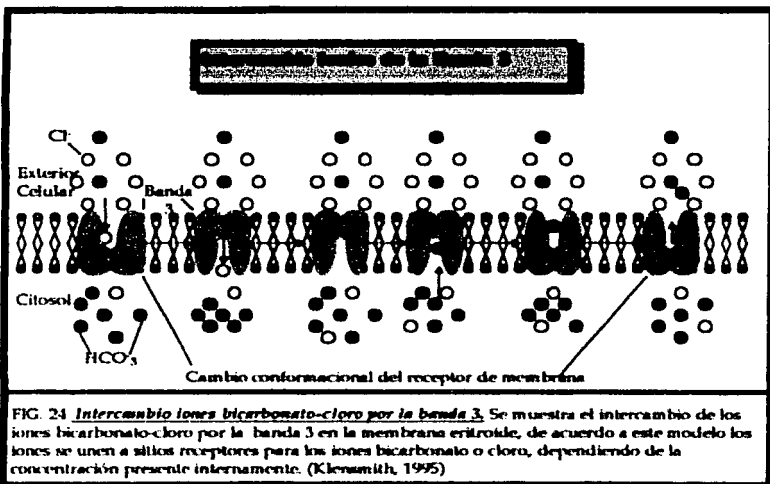


FIG. 24 *Intercambio iones bicarbonato-cloro por la banda 3.* Se muestra el intercambio de los iones bicarbonato-cloro por la banda 3 en la membrana eritroide, de acuerdo a este modelo los iones se unen a sitios receptores para los iones bicarbonato o cloro, dependiendo de la concentración presente internamente. (Klenzsmith, 1995)

Reconociendo la constitución de esta, en una mayor organización del centro de la membrana eritroide y está formación estructural dentro con mayor exactitud del modelo arquitectónico y funcional del eritrocito, las mutaciones pueden hacer cambios en la forma y deformabilidad del eritrocito. Aunque los efectos nocivos de 1 ó 2 de estas mutaciones al sustituir un aminoácido, se puede explicar por la formación de un puente importante de proteínas periféricas, otras aparecen más probablemente derivadas del impacto potencial dentro de cdb3. Realmente, 3 mutaciones tienen efecto significativo dentro de la morfología del eritrocito, residen en conservar regiones de la estructura secundaria, esta debe de ser removida lejos asumiendo sitios cortos en las proteínas periféricas. Así, Banda 3 Tuscollosa (Pro 327 → Arg), banda 3 Boston (Alanina (Ala) 285 → Asp) y banda 3 Nachod (delección GTVLL 117-121), todas contienen mutaciones localizadas en las hélices u hojas las cuales son muy críticas para el plegado correcto del polipéptido (Fig. 25). Los efectos de estas mutaciones dentro de la morfología del eritrocito asumen la conformación nativa de cdb3 en esencial en la estructura y función del eritrocito completo (Zhang, 2000).

La función que se expresa en la superficie celular se demuestra en ensayos de transporte de cloro, en células K562 que expresan la cdb 3, algunas desplegaron altos niveles del antígeno sanguíneo  $\text{Wr}^D$ , confirmando su papel en la expresión y el incremento de los bajos niveles de actividad de los antígenos Rh endógenos, incrementa los niveles de actividad del antígeno RhD y RhcE expresado dentro de las células y la reactividad de las células con anticuerpos de la glicoproteína endógena Rh (Rh GP y Rh50). El incremento

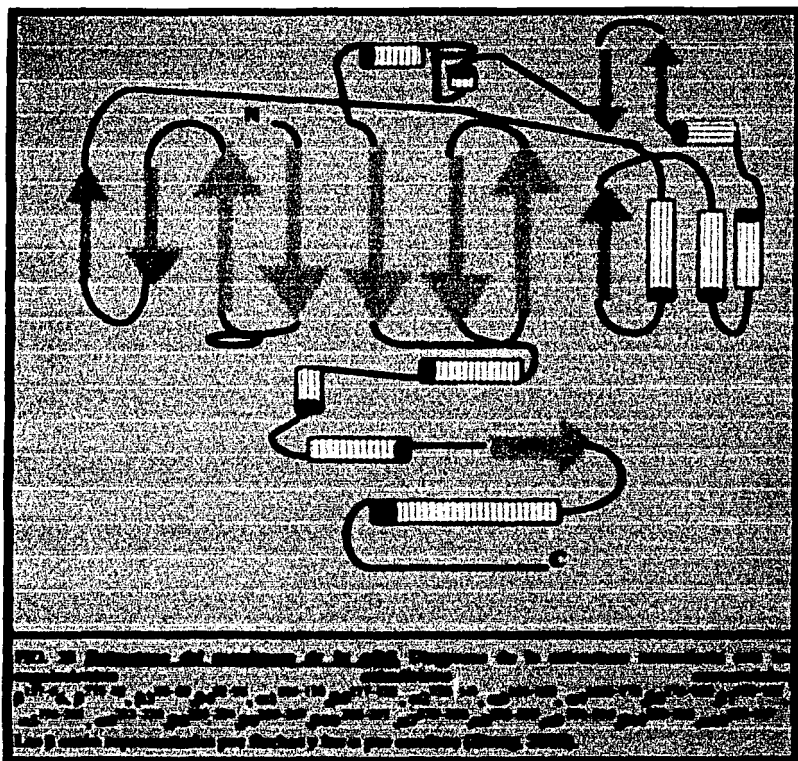
la actividad del antígeno Rh es resultado más de la superficie celular o interacción de la cdb 3 con el complejo de proteínas las cuales contienen polipéptidos Rh y RhGP, o de efectos indirectos dentro de la cdb 3 rodeando la membrana (Beckmann, 1998, Zhang, 2000)

La cdb3, en el cambio de anión proteico (AEI), del eritrocito es la más abundante proteína integral de la membrana, encontrada en el eritrocito caracterizándose por un buen transporte ( Fig. 26) (Zhang, 2000)

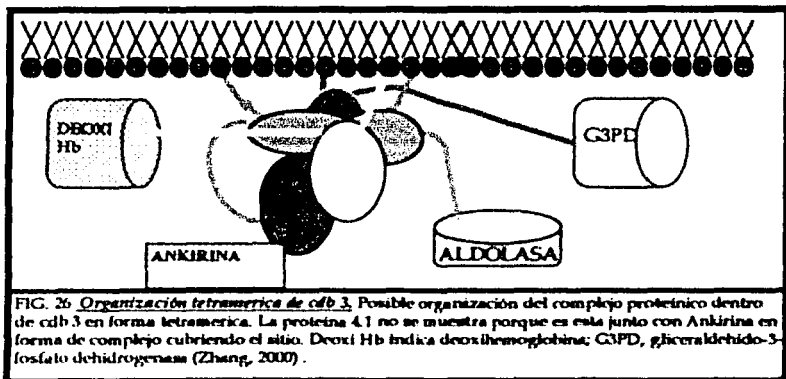
La expresión de la cdb 3 en sistemas heterólogos son de interés para reacciones severas, proporciona primero la habilidad de expresar mutaciones siendo necesarias para la conversión estructural imprevista y modelos funcionales para la proteína; segundo, es importante en la comprensión como la biosíntesis reguladora en el transporte activo, dando la maduración del eritrocito o venciendo cualquier problema asociado al potencial con la presencia transitoria de una modificación del pH que se transporta en las membranas intracelulares. Tercero, con otras proteínas presentes en la membrana plasmática eritroide y el esqueleto son esencial para comprender la maduración eritroide (Zhang, 2000)

La cdb 3 aparece normal en eritrocitos Rh null, sin embargo, por estudios de hemoaglutinación, son disminuidos el antígeno Rh y la cdb 3 en eritrocitos en forma de ovalocitos del sureste de Asia. Los defectos moleculares asociados a estos, resultan de una deleción del segmento de DNA que codifica nueve aminoácidos, localizados en el amino terminal citoplasmático y en el dominio de la cdb 3 en la membrana, de células eritroides (Avent, 2000)

En contraste las mutaciones diferentes, al sustituir aminoácidos en regiones no estructurales de la cdb 3 no causan alteración en la morfología de la célula. Un ejemplo de estas clases la conforman banda 3 Memphis, donde Lys 56 es remplazada por Glu directamente del primer centro, solo de la hoja plegada  $\beta 8$ , aquí la sustitución resulta en un 20% de reducción en el anión de transporte, rara vez de la membrana. Desde la posición de la sustitución de Lys-Glu próxima que atraviesa la membrana atado al dominio de la cdb 3, se considera un cambio en el poder electrostático cambiando la concentración de aniones próximos al transporte de la superficie (Zhang, 2000)

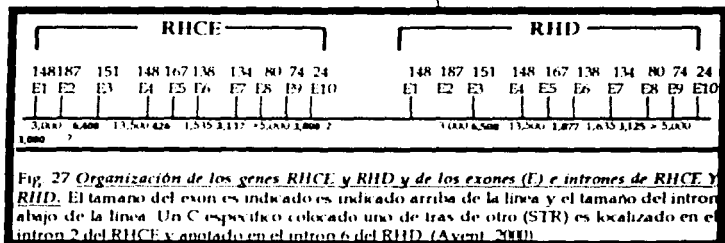


TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## 8. ESTRUCTURA DE LOS GENES RH Y RHAG.

Los genes RHD y RHCEe son altamente homólogos. El gen RHAG codifica al menos un 40% de la homología. Los tres genes están compuestos por 10 exones cada uno, RHCE y RHD uno de tras de otro comprenden 69 Kilobases (Kb) de DNA ( Fig. 27), RHAG comprende mas de 32 Kb. La proteína RhD es codificada por RHD (sinónimos: RH30, RH30B, RH30D, RHXIII, RH13), la proteína RhCcEe es codificada por RHCE (sinónimos: RH30, RH30A, RH30C (RHCE), RHIXB; RH21); y la glicoproteína RHAG es codificada por RHAG (sinónimos: RH50, RH50A)(Avent, 2000)



Los intrones y exones limitan al gen RHCE y la secuencia nucleotídica completa de algunos intrones tienden describen a RHCE y RHD (Fig. 25). La estructura de los exones e intrones del gen RHAG se tienen algo definidas y es remarcado similar en RHCE y RHD (Avent, 2000)

### 7.1 Evolución del gen de la familia Rh

Se ha pensado que estas proteínas Rh son entroides-específicas y se confieren a vertebrados superiores. Sin embargo, el descubrimiento de secuencias homólogas RHAG en invertebrados sugiere otra cosa. Estos homólogos tienen a ser fundamentados como dos genes diferentes, iguales a RHAG en las especies de *Caenorhabditis elegans* ( un nematodo) y mínimo en *Geodia cydonium* ( una esponja maraña), son determinados por proteínas codificadoras con alta remarcabilidad (46%, 36% y 47% respectivamente) identificando a los aminoácidos RhAG. La alta homología dentro de los dominios de transmembrana, sugieren una conservación funcional para la familia de proteínas Rh. trabajos tienden a demostrar la presencia de contrapartes de RHAG en ratones, macacos, y otros Rh en chimpancés, gorilas, orangutanes, mono de Asia, mandril o baubino, macaco, monos del nuevo mundo y vaca (Avent 2000)

Los homólogos invertebrados se parecen más a los RHAG del Rh humano, igual en la duplicación siendo estos probablemente los antepasados del gen. Se tiene estimado que ocurrió de 250-346 millones de años atrás, causando diferencias del Rh desde RhAG, subsecuentemente la duplicación del gen RH y RHAG sufrieron diferentes pasos evolutivos. Un segundo gen

duplicador, origina de los genes RHCE y RHD en humanos, sucediendo en un primate después de 5 a 12 millones de años. Basados dentro de la evolución genes raros RHAG y RH estos aparecen en diferentes especies, RHAG se desarrolla en poco tiempo, 2.6 millones aparece el RH, este tiene una mayor importancia en el papel funcional de las proteínas Rh (Avent, 2000)

El orden probable de los genes RH dentro del cromosoma 1 es RHCE y RHD. El principal haplotipo Rh humano se piensa que sea Dce, y los otros siete son haplotipos comunes, probablemente colocar cada gen desde el complejo por otro gen igualmente sencillo. El predominio del haplotipo D-negativo Caucásico (dce) colocado por una delección del gen RHD del complejo Rhce/RhD, considerando al haplotipo DCE, elevado por la conversión del gen con los exones 1 y 2 del RhD, remplazando al mismo exon de RhCe. Los restantes haplotipos elevados por los puntos de mutación (ejemplo. El polimorfismo E/e) o eventos raros de recombinación en varios haplotipos, es igual o similar (Avent, 2000)

## 8.2 Bases moleculares de los antígenos Rh.

Desde la primera descripción de las cDNAs del Rh, en diferentes bases moleculares se fundamentan los sistemas antígenicos del Rh. Los diferentes mecanismos proporcionan el riesgo clínico asociado, incluyen al gen de delección (fenotipo D-negativo); gen de conversión (C/c polimorfismo); mutaciones antitéticas (E/e y otras mutaciones Vs y V ) Los genes parecen ser una fuente de la masiva diversidad y combinaciones de estos rearrreglos genéticos diferentes aproximadamente entre todos los grupos étnicos (Fig. 29-32) (Avent, 2000)

**ANTÍGENO D.** Los eritrocitos del subtipo D<sup>u</sup> reaccionan con algunos sueros con anticuerpos anti-D, hay grados diferentes, el más bajo sólo es localizable mediante técnicas antiglobulínicas o enzimáticas, mientras que el grado más alto de D<sup>u</sup> sólo pasa desapercibido para algunos anticuerpos anti-d habitualmente completos, se observa con mayor frecuencia en los genotipos Cd<sup>u</sup>e cde y cD<sup>u</sup>E cde. El antígeno D<sup>u</sup> que acompaña al antígeno D esta enmascarado por este último cuando se lleva a cabo las pruebas de tipificación. Los individuos con D<sup>u</sup> ocasionalmente forman anticuerpos anti-D (Avent, 2000)

En la categoría D<sup>v</sup>, el exon 5 del RHD o partes de este son remplazadas por los correspondientes segmentos de DNA del RHCE, en los tipo I y II, el aminoácido en la posición 226 es Alanina, el cual es típico en la prevalencia del alelo RhD y es observado en todos los RhCE codificando al antígeno e, una Prolina en esta posición en RhCE codifica al antígeno E. Un nuevo D parcial, DBS, es codificado por el alelo híbrido RhD-RhcE(5)-RhD, aunque este difiere del D<sup>v</sup> tipo II por la sustitución única de A226P, careciendo de los epitopos epD4, epD12, epD17, epD18 y epD22 que están presentes en D<sup>v</sup>. La región del punto de ruptura se localiza entre la delección en el intron 4 del RHD 5' y el primer nucleótido polimórfico del exon 5 para DBS. (Wagner & Sonnerborn, 2001)

El antígeno D es una colección de epitopos dependientes-



conformacionales a lo largo de la proteína entera RhD; dando el tipo D negativo más en Caucásicos, poblaciones japonesas y africanas. Los fenotipos D negativos se asocian con un RhD normal, y la razón para la expresión carente del antígeno D no es conocida excepto en Africanos (Fig. 28) (Avent, 2000)

Gente cuyos eritrocitos tiene una alteración de la forma proteica RhD (Parcial D) proyecta más un aloanti-D. Tales eritrocitos, dependen de una fuente alterada de los epilopos, son aglutinados por una proporción de reactivo Anti-D. (Fig. 28) comprende los cambios moleculares estos son asociados con antígeno parciales D (Avent, 2000)

Análisis de genes codificados del fenotipo débil D (previamente conocido como D<sup>y</sup>) muestran una secuencia normal RhD pero una reducción en la expresión del RNA mensajero (mRNA) RHD, lo que sugiere un defecto a nivel transcripcional (Avent, 2000)

Las transcripciones RHD donde eritrocitos expresan una débil forma del antígeno D se tiene un envió fundamentando en mutaciones dentro de la transmembrana predecido o dominios citoplasmáticos (Fig 28), eritrocitos con algunos antígenos débiles D, no son aglutinados por todos los anti-D monoclonales (Avent, 2000)

**8.2.1 Antígenos CcEe** El polimorfismo RhC/c y RhE/e son causados por sustitución de nucleótidos en RHCE. Son sustituidos seis provocando un cambio en cuatro aminoácidos (Cys16Trp; Ile60Leu; Ser68Asr, Ser103Pro), asociados con el polimorfismo C o c (Fig. 29), únicamente correlacionan con el antígeno C/c. Sin embargo, Pro 102 aparece en una parte crítica del antígeno C. La presencia de dos residuos de Prolina adyacente (102 y 103) forman una estructura rígida relativa es supuesta en aminoácidos cerca a los residuos, y expuestos relativamente a un número bajo de variantes C como comparación a otros antígenos Rh. Esto tiende a ser generalizado aceptando una sencilla sustitución del nucleótido, siendo suficiente para la expresión del polimorfismo E o e (Pro226Ala). Sin embargo, variantes del antígeno e, tienden ha ser descritas mostrando los requerimientos para la expresión del antígeno e, que no se comprenden aun. Por ejemplo la presencia de Val en el residuo 245 al cambiarse por Leu, una delección del aminoácido Arg del residuo 227, o la presencia de aminoácido Cys insertando Trp en el residuo 16, afectan la expresión del antígeno e. Las bases moleculares del antígeno parcial E categorías I, II, III y D<sup>y</sup> tipo III (Fig 29-31) (Avent, 2000)

Cuando Los antígenos C y c se localizan en posición Cis (es decir sobre el mismo cromosoma), como en la combinación del gen cDe, son capaces de producir un antígeno compuesto Ce, ha sido demostrado por el hecho de que ocurren al momento que el eritrocito reacciona se tenga Ce en la posición Cis, pero no hay reacción de los eritrocitos que tienen C y e provenientes de los genes de cromosomas diferentes (posición Trans) (Avent, 2000)

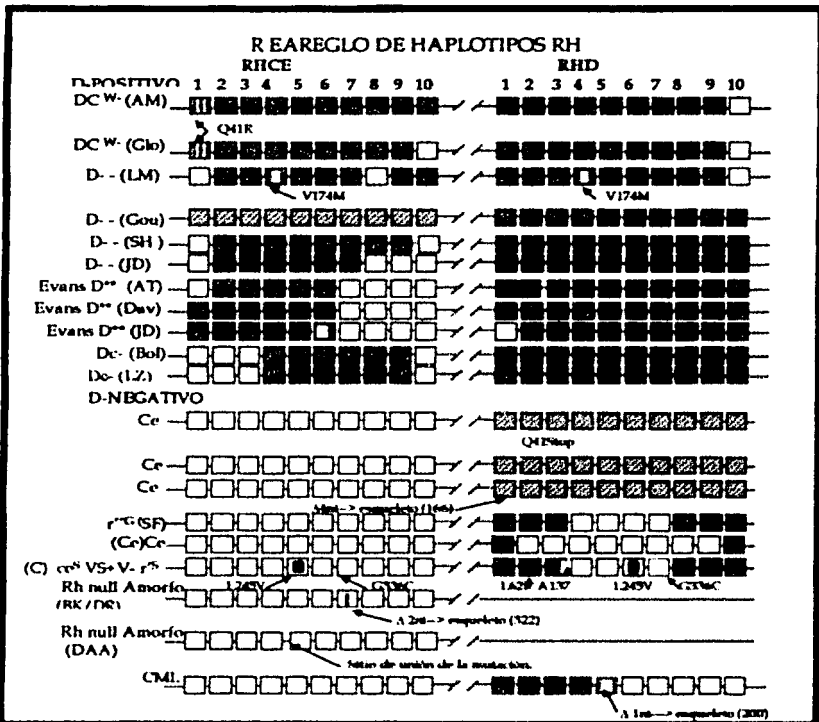


FIG. 28 *Rearreglo de haplotipos en el locus Rh subido al D negativo y deleción de haplotipos Rh.* Las estructuras del locus localizadas en 1p34-36 estas tienden ha ser definidas en varios fenotipos D- negativos y una rara deleción fenotípica del antígeno Rh. Cada gen RH es representado por 10 cajas, cada caja representa un exon, donde RHCE es mostrado en gris, RHD es azul. Las cajas cruzadas representan alélos silenciosos (Ej. RHD Q41X). Las posiciones de microinserción o deleción del DNA esta causa o indican fenotipos D- negativo son mostrados como tiras. Porque el exon 8 de RHCE y RHD son secuencias idénticas y su origen no es posible definirlo, estos se forman de acuerdo a la posición del loci del gen. El significado de estos rearreglos, y estos impactos en particular dentro de genotipos moleculares. (Avent; 2000)

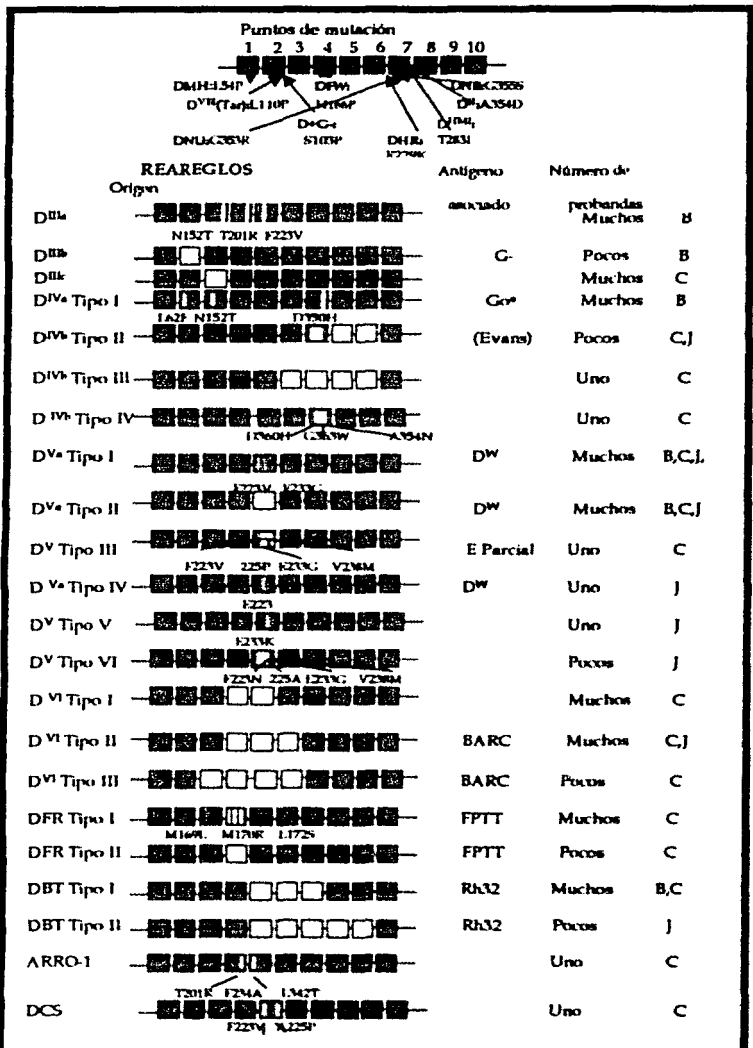
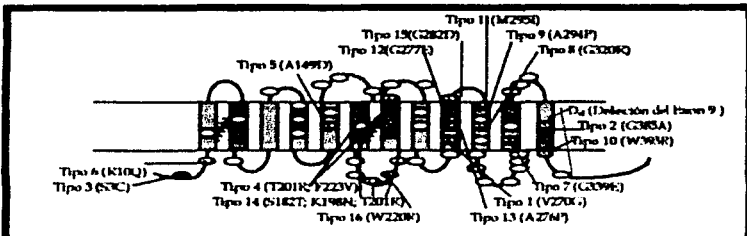


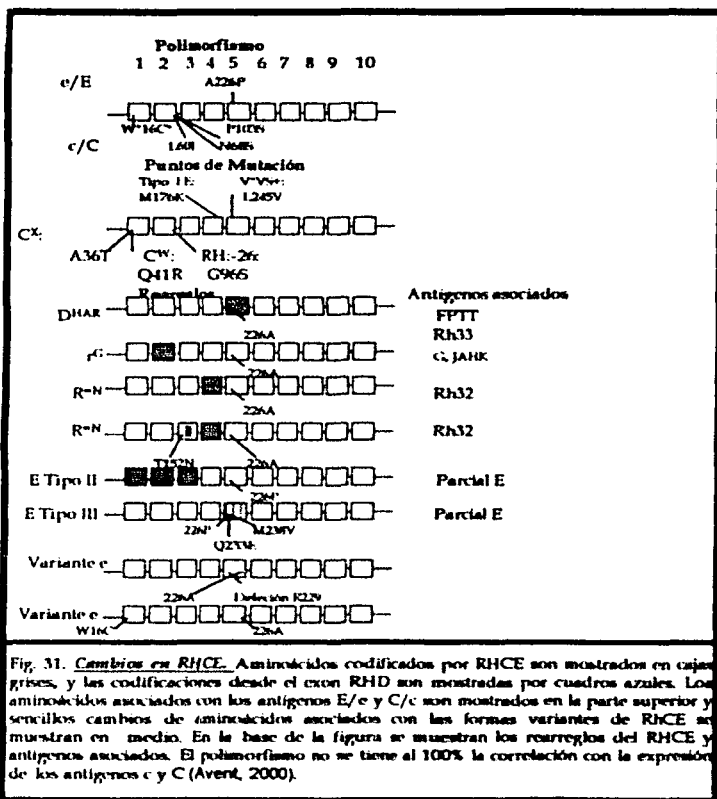
FIG. 29 *Cambio en RHD*. Bases moleculares de los fenotipos parciales D. Los diferentes alelos de RHD causan estos fenotipos parciales son representados aquí gráficamente. La estructura genómica de cada parcial D muestra los 10 exones del gen RHD, como se asocia la baja incidencia antigénica (s) y la frecuencia estimada del gen. Los exones RHD son mostrados como cajas azules, donde estos representan un equivalente RHCE es mostrado como cajas grises. Las mutaciones criadas son indicadas dentro del exon donde estas ocurren (Avent, 2000).



**Fig. 30 Bases moleculares de los fenotipos débiles D.** Esta figura describe las mutaciones enviadas en el gen RHD asociado con los fenotipos débiles D. La localización de estas mutaciones dentro de la topología predeterminada de la proteína RHD son representadas como óvalos punteados; los aminoácidos específicos D son mostrados como óvalos blancos. Mas mutaciones enviadas son localizadas dentro de las extensiones no conservadas de la membrana (azul) y regiones citoplasmáticas. La secuencia de la región conservada de la familia de proteínas Rh son indicadas como rectángulos verdes (Avent, 2000).

Otro antígeno compuesto que se origina en la misma forma es ce con un correspondiente anticuerpo Anti ce, el cual reacciona con los productos de los complejos cde y cDe (Avent, 2000)

Los sueros con anticuerpos anti Ce y anti ce constituyen reactivos valiosos para distinguir entre ciertos genotipos que no logran ser localizados mediante los sueros típicos mono-específicos anti-Rh (Avent, 2000).



**8.2.2. Antígenos Vs y V.** La presencia simultánea de los dos antígenos es de baja incidencia (VS y V) ocurre con una sencilla sustitución de aminoácidos (Leu245Val) (Fig. 29); el antígeno V (en presencia de VS) no es expresado en otras sustituciones de aminoácidos, están presentes en el residuo 336 (Gly-->Cys) (Fig. 26). La localización en la membrana de los residuos 245 y 336 están ilustrados en la expresión del antígeno Rh, siendo afectado significativamente por aminoácidos no exofaciales y sugiere que algunos epitopos Rh no son expresados, basados sólo en los residuos exteriores (Avent, 2000).

**8.2.3 Antígeno G.** Las proteínas RhD y RhC acarrear al antígeno G, el cual es asociado con residuos en la segunda ondulación extracelular codificado por el exon 2. En eritrocitos D<sup>VI</sup> cE ( D<sup>VI</sup> tipo I) el cual es predeterminado tiene una proteína híbrida RhD (exones 1-3), RhCE (exones 4 y 5), RhD (exones 6-10), el antígeno G no se detecta por anti-G<sub>1</sub> de dos monoclonales; así parece ser que los antígenos G son dependientes conformacionales y no solamente de las proteínas de RhC (c/E) o RhD (Avent, 2000).

**8.2.4 Variantes Rh.** Existe un número considerable de alelos raros que aparecen ocasionalmente en el locus Rh, aquellos que pueden tener importancia clínica son:

C<sup>w</sup>, un sustituto para C, C<sup>\*</sup> ocurre en menos del 2% de la población británica. El antígeno C<sup>w</sup> es capaz de estimular la formación de anticuerpos Anti- C<sup>w</sup>, los cuales en ocasiones aisladas han provocado reacciones hemolíticas durante las transfusiones y anemia hemolítica del recién nacido (Dodd, 1976)

C<sup>x</sup> es aun un alelo raro, ocurre en aproximadamente 1 de 1000 personas. También es capaz de estimular los anticuerpos correspondientes y es el responsable de la anemia hemolítica del recién nacido (Dodd, 1976)

D<sup>-</sup> son eritrocitos raros que no reaccionan con los anticuerpos Anti C, ni Anti c, Anti E o Anti e. Faltando los antígenos C y c, E y e, hay proliferación de D con elevación de los sitios para dichos antígenos Rh cero o null, significa eritrocitos que carecen de todos los productos de los genes Rh estas personas tienen los genes Rh pero no lo expresan (Dodd, 1976)

Fenotipo D<sub>n</sub> es definido por cantidades expresadas en líneas del antígeno D estas pueden ser detectadas por estudios de adsorción/ elusión únicamente, porque en serología rutinaria no puede diferenciarse el fenotipo D negativo del D<sub>n</sub>, ocurriendo en mínimo dentro de cada alelo en los eritrocitos (Fig. 32) Tres alelos representan el fenotipo D<sub>n</sub> (Fig. 32B) y se caracterizan por un envío y dos sitios de mutación unidos, respectivamente, para cada alelo únicamente una secuencia sencilla y la influencia de la mutación dentro de la

	Estructura molecular	Alelo	Haplotipo	Fenotipo	n
A		<i>RHCE(1-9)-D</i>	<i>cdE</i>	D negative	1
		<i>RHD-CE(2-9)-D<sub>1</sub></i>	<i>Cde</i>	D negative	3
		<i>RHD-CE(2-7)-D<sub>1</sub></i>	<i>Cde</i>	n.d.	2
		<i>RHD-CE(2-9)-D<sub>2</sub></i>	<i>Cde</i>	D negative	8
		<i>RHD-CE(2-7)-D<sub>2</sub></i>	<i>Cde</i>	D negative	2
		<i>RHD-CE(3-7)-D</i>	<i>Cde<sup>s</sup></i>	D negative	1
		<i>RHD-CE(4-7)-D<sub>1</sub></i>	<i>cdE</i>	D negative	3
		<i>RHD-CE(4-7)-D<sub>2</sub></i>	n.d.	D negative	1
		<i>RHD-CE(8-9)-D</i>	<i>Cde</i>	D negative	3
B		<i>RHD(W16X)</i>	<i>Cde</i>	D negative	2
		<i>RHD(IVS3+1G&gt;A)</i>	<i>CDe</i>	<i>D<sub>el</sub></i>	3
		<i>RHD(G212V)</i>	<i>Cde</i>	D negative	1
		<i>RHD(M295I)</i>	<i>CDe</i>	<i>D<sub>el</sub></i>	7
		<i>RHD(Y330X)</i>	<i>Cde</i>	D negative	1
		<i>RHD(IVS8+1G&gt;A)</i>	<i>Cde</i>	D negative	1
		<i>RHD(K409K)</i>	<i>CDe</i>	<i>D<sub>el</sub></i>	5
		<i>RHD*</i>	<i>cde</i>	D negative	1

Fig. 32 Estructuras moleculares detectadas de 17 RHD positivos, D negativos o alelos *D<sub>el</sub>*. Para cada haplotipo, una representación esquemática a lo largo muestra la estructura molecular con una designación, asociando al haplotipo, fenotipo y números observados, cada exon Rh D es indicado por una caja, el intron y portador del polimorfismo investigado es mostrado con círculos, las cajas blancas indican la presencia de secuencias RhD específicas, las cajas negras carecen de predeterminación del exon específico RhD mediante resultados PCR-SSP. Los exones 1, 2 y 8 son mostrados en gris, dado que se identifican en algunos alelos RHD y RhCE. El panel A muestra los alelos híbridos, las estructuras moleculares son mostradas como alelos sencillos híbridos, y en el panel B otros alelos, mostrados por una barra vertical. El alelo RHD (M295I) es similar a el tipo débil *D<sub>el</sub>* pero representa diferentes haplotipos y fenotipos (Wagner, Frohmaper, 2001).

unión mRNA son ejemplos no verificados por el análisis cDNA; porque carecen de material no se pueden formar el fenotipo D<sub>el</sub> excluyente para los 2 RHD-CE(2-7)-D<sub>1</sub>. Sin embargo, una expresión D<sub>el</sub> por este alelo es muy diferente, como otros alelos híbridos acarrean varios genes pequeños de conversión, probablemente RHD-CE (2-7)-D<sub>2</sub>, son equivocación de D negativos (Wagner & Frohman; 2001).

Las frecuencias de las poblaciones esta calculado (Tabla 14), los antígenos D negativos con haplotipos del gen RHD positivo están estimados en 1:1,537, el más frecuente alelo es RHD-CE(2-9)- D<sub>2</sub> con una frecuencia de 1:5,682, representa aproximadamente el 27%, los alelos híbridos RHD que carecen del exon 4 al 7 se estiman en un 68%, los antígenos D negativos con haplotipos acarreadores del antígeno C representan el 84%, en comparación son sólo el 3% de todos los haplotipos D negativos, tienen una frecuencia acumulada del alelo D<sub>el</sub> de 1:3,030, del antígeno D negativo en alelos positivos al gen RHD (Wagner & Frohman, 2001).

Fenotipos documentados	ocultos	PCR-SSP positivos	D positivos*
Ejemplos de testigos sencillos†			
Ccddde	433	34	0
ccddEe	271	5	2
CCddde	24	4	0
CcddEe	19	4	2
ccddEE	6	1	0
CcddEE	1	0	0
ccddde	314	0	0
Ejemplos de un pool de 20 como testigo†			
ccddde	7,374	2	1
<b>Total</b>		50	5

Tabla 14 Población de donadores D-negativos observados, documentados y teniendo ocultos RHD por medio de PCR. \* Los ejemplos involucran futuros análisis como débil D, parcial D o falsos D +/-, † positivos en un mínimo para 1 de 4 testigos polimórficos RDH específicos (promotor, intron 4, exon 7 y 3<sup>o</sup> VTR), ‡ positivos en un mínimo de 1 de 3 RHD (promotor, Intron 4 y 3<sup>o</sup> VTR) (Wagner & Frohman, 2001).

Los fenotipos variantes RH están a lo largo se conocen como mínimo cuatro mecanismos

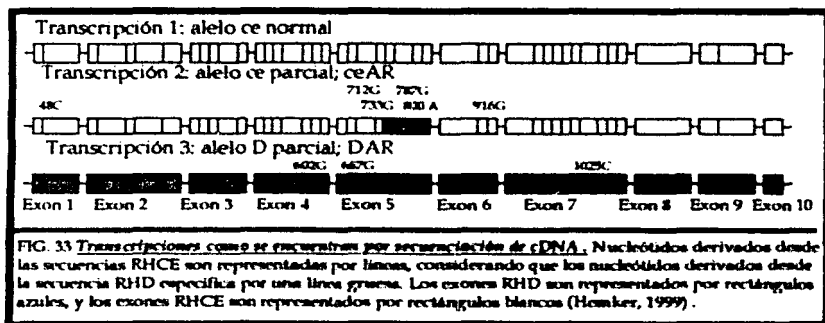
- 1) Rearreglos RHCE y/o RHD. (Fig 26,27 y 29).
- 2) Punto (s) de mutación en uno y otro gen causando cambio(s) en aminoácidos, con subsecuentes pérdidas de algunos epitopos y la incidencia baja de la expresión del antígeno.
- 3) Mutaciones sin sentido
- 4) Delección de nucleótidos causando una fragmentación y perturbación del codon stop Estas son algunas evidencias, siendo recombinaciones fuertemente de los genes Rh (Avent, 2000).



Los genes RHCE arreglados, asociados con D- y D\*\*, hablando de la expresión de los antígenos C, c, E y e, pasan la expresión del antígeno D de la inmunoglobulina (Ig) G anti-D, pueden ser aglutinados los eritrocitos en solución salina, debido a un aumento de los dos dentro de RHCE en una larga inserción de RHD colando uno detrás de otro con un gen RHD (Fig. 26): Esto aparece como una delección de los fenotipos RHCE dentro del nivel proteico, esto codifica por rearreglos RHCE y así son vaciados RHCE (Avent, 2000).

Una nueva variante del RHD, DAR y una nueva variante de RHCE, ceAR, son descritas en cuatro personas de color de origen africano-holandés. Serológicamente DAR muestra una débil reacción con un anticuerpo monoclonal y un antisuero polidonal D. El fenotipo DAR se caracteriza por la pérdida completa de un mínimo de 9 de 37 epítopos RHD. Los eritrocitos que expresan ceAR son todos los tipos con VS-; V+. El análisis de DNA muestra un alelo parcial D con únicamente 3 mutaciones, C602G (exon 4), T667G (exon 5), y T1025C (exon 7) El alelo ceAR lleva G48C (exon 1), una hibridación en el exon 5 (A712G, C733G, A787G y T800A), y A916G (exon 6) (Fig. 33). Estas variantes se encontraron al analizar 326 pacientes de color Sudafricanos, ocultándose genómicamente, de 326 donadores, 16 (4.9 %) llevan el alelo DAR, 20 (6.14%) el alelo ceAR y 14 (4.3%) los dos alelos mutados, cinco de estos donadores (1.5%) tienen el fenotipo DAR, indicando con esto que llevan el alelo DAR homocigóticamente o próximamente un alelo D-negativo. (Hemker, 1999)

La inmunogenicidad del antígeno D para individuos con el fenotipo DAR se comprueba, porque uno de cuatro individuos holandeses producen autoanticuerpos contra D después de múltiples transfusiones con la sangre D positiva. En una sociedad multirracia, la prevalencia puede incrementarse y es por esto una práctica relevante en transfusiones y prevención de la anemia hemolítica del recién nacido. (Hemker, 1999)



**8.2.5 Baja incidencia de antígenos asociados con antígenos parciales D** Son dúos de estructuras nuevas dentro de la superficie del eritrocito y son útiles para marcar la identificación parcial de D (Fig. 39). Una baja incidencia de los antígenos son poco asociadas con más de un termino final molecular, ejemplo: el FPTT (Rh50) es expresado dentro de eritrocitos DFR, fenotipos Ro<sup>MAR</sup>, y D<sup>V\*</sup> (C)-; el antígeno Rh32 es manifestado dentro de eritrocitos DBT y R<sup>\*N</sup>. El antígeno Evans es expresado dentro de eritrocitos D<sup>\*\*</sup> y una débil forma de Evans, esta presente dentro de eritrocitos D<sup>Vib</sup> poseen unos antígenos (Rh23/32), expresados en eritrocitos Rh23 o Rh32, presenta los dos fenotipos. En estos casos, son probablemente localizados en sitios similares a los extremos de la superficie de las proteínas alteradas (Avent, 2000).

### 8.3 Mapas de epítomos RhD.

Los antígenos parciales D de eritrocitos son clasificados e identificados por testigos con buena caracterización policlonal anti-D, hecho por otras personas con fenotipo parcial D y, también, por eritrocitos testigos de pacientes D contra anti-D. Los anticuerpos monoclonales humanos están siendo ahora aislados para la clasificación de antígenos parciales D enunciado en términos de epítomos. El modelo original consiste de 8 y 9 epítomos D (ep D) pero se han extendido consistiendo de 16, 30 y 37 epítomos, emplea un anti-D monoclonal definido para cada epítomo, es importante realizar el testigo en el pH adecuado, temperatura, fuerza iónica y concentración de anticuerpos; esto utiliza un almacenamiento apropiado, e incluye controles más epítomos D, siendo dependientes de la conformación e influencia por otras proteínas y lípidos de la membrana del eritrocito. Realmente solo un anti-D monoclonal describe estos reactivos fuertemente por inmunoblot, implicando más al epítomo reconocido linealmente (Avent, 2000)

Prediciendo la localización de varios epítomos D, se tiene como base el saber si están presentes a ausentes del eritrocito, con una parcialidad D para cada base conocida. Sin embargo, la ausencia de un epítomo D no es siempre resultado directo de un cambio en la estructura molecular, y en presencia de proteínas codificadoras Rh por genes Cis y Trans, pueden afectar la unión de monoclonales fijos anti-D, por ejemplo Ro<sup>MAR</sup> y D<sup>V\*</sup> no tienen ningún exon RhD en común, pero si una reactividad de translocación con un anticuerpo monoclonal anti-D, demuestran la dificultad de la definición correcta de los epítomos D con las bases moleculares. Un modelo propuesto por Chang y Siegel sugiere al anti-D como esencialmente similar a la huella básica de la proteína D en estos reactivos. En estos modelos, un cambio, una sustitución en un aminoácido o en una hibridación de la proteína, predetermina la interferencia con la unión de anti-D. Los residuos fijos de la envoltura para la unión del anti-D monoclonal, tienden a ser investigados los sitios por mutagénesis directa (site-directed mutagénesis {SDM}), como se muestra esta incorporación de tres aminoácidos D específicos ( Asp 350, Gly 353, y Ala 354) dentro de una construcción generada en RhcE, algunos generan epD3 y epD9, y una incorporación de residuos generados por epítomo 9 exofacial D estos son reconocidos por 40 de 50 anti-D monoclonales. Estos datos argumentan como mínimamente algunos epítomos D, son distintos espacialmente. Sin embargo, estudios SDM tienden a

no nombrar la localización de aminoácidos de impacto dentro de la bicapa lipídica o del lado citoplasmático de la membrana del eritrocito. Determinaciones exactas de puntos de contacto de interacción (es) entre antígeno y anticuerpo concuerdan con los datos de cristalografía. (Avent, 2000)

## 9. ASPECTOS CLÍNICOS

Complicaciones clínicas resultan de la hemólisis de eritrocitos; se da por la interacción entre un aloanticuerpo con el antígeno correspondiente llevado por eritrocitos. El antígeno D es altamente inmunogénico e induce una respuesta inmune en 80% de personas D negativo, al transfundir 200 ml de sangre D positivo, por esto la tipificación del antígeno D es ejecutada de rutina dentro de cada donador de sangre y transfusiones del receptor, evitando errores de transfusión y complicaciones clínicas, no obstante el uso de terapia inmunosupresora por profilaxis de inmunoglobulina anti-D, aloinmunización D durante el embarazo (Avent, 2000).

### 9.1 Aloanticuerpos.

Las células dentro de su actividad biológica expresan moléculas que incluyen componentes, enzimas, receptores, sistemas de transporte, proteínas virales y moléculas accesorias, muchos llevan determinantes únicos que tienden a generar respuestas inmunes genogénicas y/o alógenas. Los aloantígenos juegan un papel importante en los mecanismos de defensa del cuerpo y son de importancia clínica con respecto de las transfusiones sanguíneas y trasplantes de tejidos y órganos (Roit, 1999)

El polimorfismo de los aloantígenos puede dar varios pasos o caminos:

1º variaciones secuenciales en genes estructurales; (ejemplo: Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC), antígenos, antígenos del grupo sanguíneo Rh);

2º variaciones en las actividades de enzimas involucradas en la síntesis de epitopos antigénicos ( ejemplo determinantes de carbohidratos en los grupos sanguíneos ABH o Lewis)

3º, secuencias de variación en elementos reguladores controladores de la expresión de genes estructurales. La respuesta de aloantígenos puede ocurrir en varios pasos o caminos

- 1) Aloinmunización
- 2) Inmunización natural (ejemplo Ocurren naturalmente anticuerpos contra antígenos ABH)
- 3) La respuesta inmune, maternal contra los antígenos fetales durante el embarazo (ejemplo. anticuerpos contra los antígenos humanos MHC). (Tabla 15) (Roit, 1999)

La presencia de aloanticuerpos frente a los antígenos eritrocitarios exige que para efectuar una transfusión se elija una sangre negativa con respecto al antígeno específico presente. La identificación de los aloanticuerpos y la selección de la sangre compatible es una de las principales funciones de un servicio de transfusiones. Los aloanticuerpos para los eritrocitos pueden ser:

- 1) Presencia natural; es decir, los estímulos antigénicos son desconocidos;
- 2) Un resultado de inmunización por transfusión;
- 3) Inducidos por eritrocitos fetales durante el embarazo o en el momento del parto (Henry, 1993)

## 1. Antígenos sanguíneos.

Sistemas mayores: ABO (H), R

Sistemas menores: Lewis, MNS, Lutheran, Kell, Duffy, Kidd.

Significado funcional y clínico: Transfusiones sanguíneas, trasplante de órganos y tejidos, enfermedades hemolíticas y respuesta inflamatoria.

## 2 Antígenos de histocompatibilidad.

A. Antígenos de histocompatibilidad (MHC) mayores:

(a) Clásicos

Clase I: Humano HLA-A, B, C

Ratón H2-K, D, L

Rata RT1.A, F, E

Clase II: Humano HLA-DP, DQ, DR

Ratón H2-A, E

Rata RT1.H, B, D

Significado funcional y clínico: presentación de antígenos péptidicos a células T; asociación con susceptibilidad a un número de enfermedades; trasplante de tejidos y órganos.

(b) No Clásicos:

Clase I Humano HLA-E, F, G, H, J, K, L; MIC (MHC clase I cadena relativa)

Ratón H2-Q, T, M

Rata RT1.C, K, G, O, N, M.

Clase II: Humano HLA-DMA, DMB

Ratón Ma, Mb, Mb<sub>2</sub>

Significado funcional y clínico: presentación de antígenos péptidicos específicos a células T. DMA/DMB actúan como moléculas accesorias en la presentación de antígenos por antígenos de clase II

(c) Antígenos MHC clase III

Humano: C2, factor B (Bf), C4A y C4B (proteínas de complemento); TNF $\alpha$ , TNF $\beta$  (factores de necrosis tumoral); esteroide 21-hidroxilasa (CYP21); mayor 70 kDa proteína estresante Hsp 70, y TAP (transportador de péptido antigénico)

Ratón C2, C4, Bf, SIp (Sex-limited protein), 21-hidroxilasa (21-OH), Hsp70 y TNF $\alpha$ , TNF $\beta$

Rata C2, C4, Bf, Hsp70, Cyp21, TAP, TNF $\alpha$

Significado funcional y clínico: funciones de complemento; transporte del antígeno péptidico; chaperonas en procesamiento y presentación del antígeno

(d) Antígenos débiles MHC codificado por genes residentes fuera del MHC

Clase I- débil.

Humano, Ratón, Rata FcRn, CDI

Humano Zinc  $\alpha$ -2-glicoproteína (ZAG)

Significado funcional y clínico: FcRn une IgG desde la ingesta de leche materna y transfiere esta a través de las células intestinales al torrente sanguíneo. CDI presente predominantemente en lípidos no péptidicos y antígenos glicolipídicos de células T; y ZAG no se conoce su función fisiológica

B. Antígenos menores de histocompatibilidad

(a) Sex-specific: H-Y (ratón, rata, humano)

(b) Muchos antígenos específicos de tejido en todas las especies

(c) Super antígenos endógenos MIs:

Ratón MIs-1\*, MIs-2\*, MIs-3\*

Significado funcional y clínico: Estimula la mezcla de linfocitos

## 3. Antígenos de diferenciación (CD)

En exceso de 100 desórdenes tienden a ser identificados en humanos

Significado funcional y clínico: envolvente en interacciones celulares

Tabla 15 Aloantígenos del sistema mayor con sus funciones básicas y significado clínico (Roi 1999)

Algunos anticuerpos presentes naturalmente aparecen de forma regular en personas que carecen del antígeno correspondiente, como el anti-A en el grupo B, el anti-B en el grupo A, el anti-AB en el grupo O o anti- P, PP<sup>x</sup> en personas p. Otros anticuerpos naturales pueden aparecer tan sólo en un cierto porcentaje de la población que carece del respectivo antígeno. Por ejemplo, el 5-20% de los individuos Le (a-b-) son anti-Le\*(Henry, 1993)

Las pruebas de compatibilidad sistemática (pruebas cruzadas) indican que no existe incompatibilidad detectable entre el donante y el receptor. La transfusión sanguínea puede introducir eritrocitos que contienen una cantidad de antígenos de los cuales el receptor carece. Algunos de estos antígenos pueden ser altamente antigénicos e inducir la producción de anticuerpos específicos en el receptor; el significado clínico de estos anticuerpos varía (Henry, 1993)

Los aloanticuerpos que reconocen antígenos Rh son usualmente IgG y reactivos por pruebas indirectas de IgG, estas consisten en incubar eritrocitos en suero y luego lavados, se remueven las inmunoglobulinas libres, y se exponen a un reactivo con antiglobulinas está esta formulado para detectar en las células las IgG ligada a ellas, siendo el punto final de la prueba de hemoaglutinación. Los aloanticuerpos en sistemas sanguíneos Rh pueden causar la hemólisis en la transfusión de eritrocitos y la anemia hemolítica del recién nacido (HDN); personas que tienen en los eritrocitos una delección rara del fenotipo (Rh null, D--) crean fácilmente aloanticuerpos. Personas con el fenotipo amorfo regulador del tipo Rh null pueden tener anti-Rh29 (un anticuerpo total Rh=, anti- Rh17, un anticuerpo de la proteína RhCc/Ee), anti-D, anti-C, o una mezcla de estos. Las transfusiones de pacientes con anti-Rh29 son un problema ya que únicamente los eritrocitos Rh null tienden a ser compatibles; raros, además de tender a causar una anemia hemolítica, la cual es corregida y es por esto las diferencias encontradas en el criterio de la donación. Personas con uno de los fenotipos D--, D\*\*, DCW- y/o Dc- tienen anti-Rh17. Un paciente con anti-Rh17 también representa un problema complicado en la transfusión porque únicamente los eritrocitos con el mismo fenotipo son compatibles (Avent, 2000)

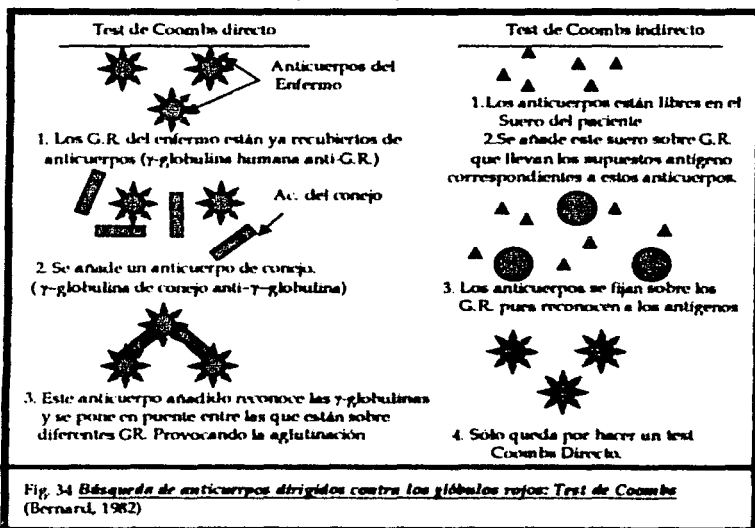
## 9.2. Autoanticuerpos.

El término autoanticuerpo se usa para designar todo anticuerpo que reaccione con un antígeno encontrado en el mismo sujeto que lo produce, además, de reaccionar con el mismo antígeno descubierto en otros individuos normales. Los resultados de la reacción antígeno-anticuerpo puede crear la anemia hemolítica, leucopenia y trombopenia, pero frecuentemente los autoanticuerpos no dan lugar a síntomas clínicos manifiestos, si se utilizan los reactivos adecuados para su valoración, frente a los eritrocitos, la prueba de antiglobulina directa suele ser positiva, mientras que la prueba de antiglobulinas indirecta puede serlo o no. De acuerdo a la temperatura se clasifican en dos categorías: los fríos (generalmente IgM) y los calientes (generalmente IgG) entre los anticuerpos productores de anemias cerca del 15% pertenecen a las categorías de los fríos y el 85% restantes pertenecen a la categoría de los calientes (Fig. 34) (Henry, 1993)

La prueba de Coombs es de dos tipos, el directo muestra, la presencia de complejos antígeno-anticuerpo y el indirecto detecta anticuerpos que reaccionan únicamente en un medio que los potencializa, constituye un diagnóstico para:

1. Enfermedad hemolítica del recién nacido. Coombs indirecto.
2. Anemia hemolítica del recién nacido. Coombs indirecto.
3. Reacción de transfusión. Se emplean ambos.
4. Sensibilización de los eritrocitos por fármacos. Se emplean ambos.

La indirecta es positiva, en presencia de anticuerpos específicos; generalmente por una transfusión previa o embarazo; anticuerpos inespecíficos como en la enfermedad de aglutininas frías o en la anemia hemolítica del recién nacido ( Bach, 1997)



Los anticuerpos IgG (peso molecular aproximado de 160,000) son moléculas mucho más pequeñas que los anticuerpos IgM, posee también dos puntos de combinación, una sola de estas moléculas no pueden reaccionar con dos eritrocitos suspendidos en solución salina, pues los eritrocitos están demasiado separados; los anticuerpos IgG recubren, pero no aglutinan, los hematies en solución salina. Por lo tanto, se denominan anticuerpos incompletos o anticuerpos bloqueantes. Son anticuerpos IgG los siguientes:

1. Isoanticuerpo Rh que se forman en la exposición repetida a un antígeno Rh
2. El tipo caliente de autoanticuerpos que se encuentran en las anemias hemolíticas autoinmunes idiopáticas o adquiridas secundariamente

### 3. La mayoría de anticuerpos relacionados con medicamentos y que producen hemólisis (Rapaport, 1980)

Hay cuatro isótipos estructurales de IgG humana (Fig. 35). La hemólisis causada por anticuerpos IgG se conoce por anemia hemolítica autoinmune adquirida; se añade a menudo al término "de tipo caliente" para distinguir este síndrome hemolítico de la hemólisis secundaria a las crioglobulinas IgM. Este trastorno es bastante frecuente y puede dividirse en:

1. Idiopático. Esta forma se observa con mayor frecuencia en individuos de más de 40 años, que súbitamente presentan una hemólisis grave y persistente, sin que un estudio cuidadoso revele una enfermedad subyacente.
2. Secundario
  - a) Como complicación frecuente de algunas enfermedades que se acompañan de alteraciones de la reactividad inmunológica
  - b) Como complicación en muchas otras enfermedades en las cuales resulta a veces alterada la reactividad inmunológica.
  - c) Tras el empleo de fármacos (Rapaport, 1980)

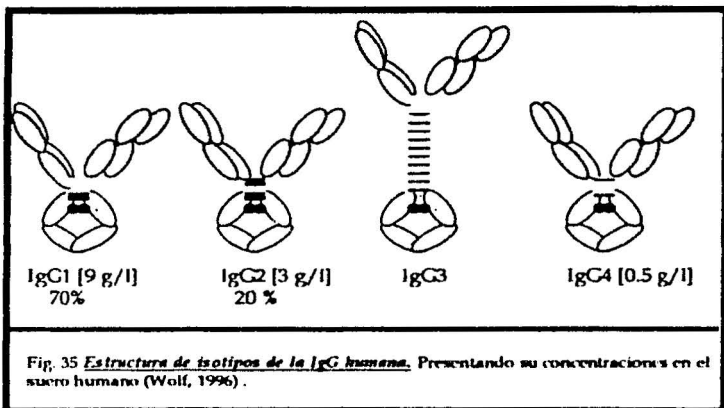
A menudo el autoanticuerpo tiene un carácter Rh que consiste en no reaccionar con los hematies de un tipo Rh en extremo raro (Rh null), donde no es detectable ninguno de los antígenos del complejo Rh (Hadrod, 1999)

Los anticuerpos son reactivos contra los antígenos, hecho por el propio eritrocito, los autoanticuerpos tienen una reacción óptima a los 37°C estando presentes en el suero de aproximadamente 80% de los pacientes con anemia hemolítica autoinmune. Aunque más de estos autoanticuerpos parecen no tener especificidad hacia un antígeno Rh, notablemente hacia e. Los anticuerpos Rh son más o menos IgG, aunque algunos pueden ser IgM o una combinación de ambos anticuerpos, para el anti-E es más probable que sea de tipo IgM, otros son Anticuerpos R<sub>m</sub>, anti-D dan este mismo anticuerpo en una respuesta primaria, raramente, algunos anticuerpos Rh tales como Anti-e hay anticuerpos IgA (brief medlab, 2001) Raramente esta especificidad da un claro corte, pero el auto anticuerpo, comúnmente reacciona más rápidamente con el antígeno negativo de los eritrocitos estos son antígenos posentrocitarios; sin embargo, en estos casos, transfusiones con antígenos negativos los eritrocitos son raros sobrevivientes, que con los antígenos positivos (Avent, 2000)

Cuando la IgG anti-Rho materna entra ha circulación fetal y se combina con los eritrocitos Rh positivos, la presencia del complejo asegura que se produzca la lisis, entrando a circulación los eritroblastos para compensar la pérdida de células maduras y crean un estado de eritroblastosis (Barrett, 1978)

Los autoanticuerpos en pacientes con anemia hemolítica autoinmune son no sólo reactivos con los eritrocitos Rh null y D-- (autoanti-Rh17) o únicamente con los eritrocitos Rh null (autoanti-Rh29) en tales casos, los antígenos negativos en sangre no son aprovechables, mientras que con el Rh positivo en la transfusión se crea una potente amenaza para el paciente ya que estos son aprovechados para desencadenar la respuesta inmune (Avent, 2000)





### 9. 3 Fenotipos parciales y débiles.

Las personas que tienen la variante D con el fenotipo débil cualitativo no tienen anti-D, considerando que tienen un fenotipo parcial D (variante D cualitativa con o sin antígenos D débiles) pueden marcarse como aloanti-D (Avent, 2000), se presentan en un 0.2% y 1%, ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) diferentes problemas dependiendo si dentro de la persona es un donador o un paciente. Para los donadores la detección de los antígenos débiles o parciales D, es requerida para eliminar la posibilidad de inmunización que puede mostrar el paciente en la transfusión de un D negativo verdadero. Sin embargo, datos muestran estas expresiones débiles del antígeno siendo diferentes más inmunogenéticamente, para las transfusiones de receptores y mujeres embarazadas, es usado comúnmente en la práctica, el procedimiento para clasificar los eritrocitos con un antígeno débil o algunos antígenos parciales D como D negativos. Algunos son identificados únicamente como D positivos (Rh positivo) y otros como D negativos (rh negativo), pero cuando estos últimos son receptores es necesario descartar la parcialidad o la debilidad del fenotipo. En las transfusiones se asegura que sea Rh negativo, y durante el embarazo se da una profilaxis con IgRh, previniendo así una aloinmunización. Aunque la mujer embarazada con el fenotipo parcial D<sup>VI</sup> es muy marcado el aloanti-D, ya que tiende raramente a causar problemas clínicos en el feto D positivo (Avent, 2000)

La aplicación del fenotipo Rh no se realiza de rutina en todos los pacientes, diferentes laboratorios lo tienen, en ciertas circunstancias el fenotipo debe ser realizado si se tiene:

1. Pacientes con un aloanticuerpos Rh.
2. Pacientes con autoanticuerpos (anticuerpos Rh son usualmente envueltos) (bne.medlab, 2001).

Se emplean cinco antisueros del fenotipo Rh; anti-D, anti-C, anti-E, anti-c y anti-e, este último es raro y caro, no es empleado por algunos laboratorios, tomando como positivo al paciente si es negativo a Anti-E, otorga un e positivo. La determinación del genotipo más probable, es determinado mediante la tipificación ([www.brie.medlab](http://www.brie.medlab), 2001).

Hay 16 diferencias moleculares totales en los tipos débiles D y dos alelos característicos del parcial D, los aminoácidos sustituidos del tipo débil, y localizados intracelularmente y en segmentos de proteínas de membrana y en el grupo de las cuatro regiones de la proteína (posiciones 2-13, aproximadamente 149, 179 a 225, y 267 a 397 aminoácidos). Hay diferencias entre el antígeno D y uno D<sup>V</sup> (Fig. 36) ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov))

## 9.4 Anemia hemolítica del recién nacido (HDN) y Rh.

**9.4.1 Mecanismos de producción de la enfermedad.** La anemia en la eritroblastosis fetal es de tipo hemolítico. La destrucción de los eritrocitos fetales depende de la presencia en la circulación fetal de isoanticuerpos formados en la madre en respuesta a un antígeno del cual ella carece. Los aglutinógenos A, B y D son frecuentes antígenicos; los demás lo son menos. Allen y Diamond aseguran que las incompatibilidades A y B son responsables de los dos tercios de casos de eritroblastosis fetal; la D (Rh) de un tercio aproximadamente; los demás factores sanguíneos, del 2-3% de los casos. Sin embargo la incompatibilidad Rh reviste una mayor importancia clínica, pues ocasiona una enfermedad más grave. Hay grandes diferencias individuales en cuanto a la capacidad para formar anticuerpos, y menos del 10% de las madres Rh negativas que tienen esposos Rh positivos se sensibilizan; incluso si es homocigoto Rh positivo (DD) la madre puede tener varios hijos sin sensibilizarse (Leavell, 1978)

El método de sensibilización de la madre a los eritrocitos del feto en casos de incompatibilidad Rh (D) es un problema muy complicado. Allen y Diamond señalan que cantidades de sangre tan pequeñas como 0.1 a 1.0 ml bastan para causar sensibilización. Se ha comprobado que pequeñas cantidades de eritrocitos fetales alcanzan la circulación materna durante todo el embarazo. Esto ocurre sobre todo en el último trimestre. Después del parto, puede comprobarse que la mitad, aproximadamente, de las madres tienen eritrocitos fetales en la circulación. En un pequeño porcentaje de los casos la hemorragia transplacentaria es suficiente para causar anemia en el recién nacido o en el muerto in útero (Leavell, 1978) En los abortos espontáneos repetidos deberán investigarse la sensibilidad al Rh en ambos cónyuges (San Martín, 1992)

Algunos pasos a través de la placenta, pero más cuando son liberados dentro de la circulación placentaria a través de difusión, causan una respuesta inmune en la madre Rh negativa, dándose ya que el RhD es considerado por la respuesta inmune como un antígeno y anticuerpos marcados (Fig37) (Rott, 1997)

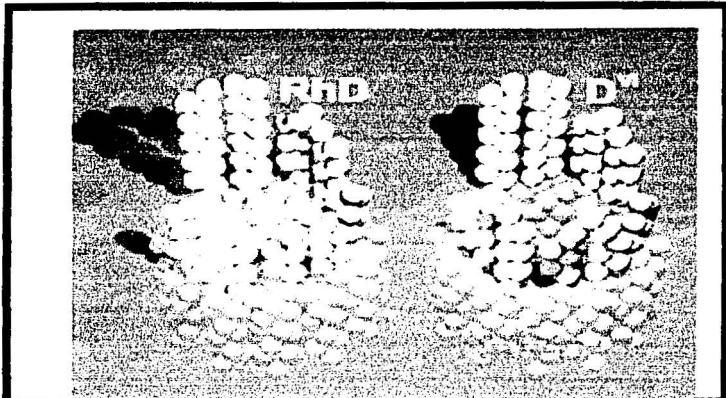
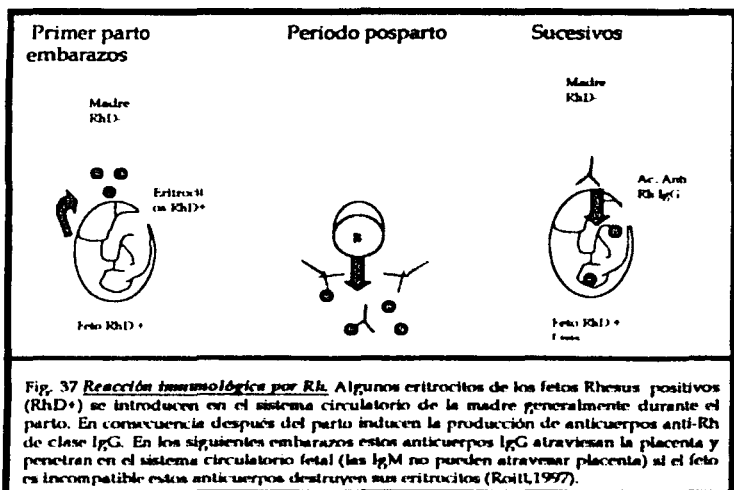


Fig. 36 Representación esquemática del antígeno D dentro de la superficie del eritrocito. La proteína Rhd normal se muestra a la izquierda, las esferas representan los aminoácidos; seis ondulaciones extracelulares de los aminoácidos son mostradas en color amarillo claro y gris claro, los segmentos de las proteínas de transmembrana son presentados en rojo. La proteína RHD difiere sólo de la proteína RhCE (no mostrada) en 7 aminoácidos únicamente de color amarillo, todos los otros aminoácidos extracelulares de color amarillo claro y azul claro, son idénticos entre las proteínas RhD- y RhCE-. En la proteína D<sup>M</sup>, las dos ondulaciones llevan la secuencia específica RhCE (azul claro), siendo esta la secuencia específica Rhd. Así, las partes extracelulares de la proteína D<sup>M</sup> difiere de la proteína Rhd normal por tres aminoácidos únicamente (azul) otras diferencias transmembranales e intracelulares más; sin embargo, poco afectan la configuración de la proteína y no son mostrados por simplicidad (www.uni-ul).

El antígeno rh'(C) estimula la producción de anticuerpos, generalmente asociados con el anti-Rho (D), sólo un segundo lugar tras el antígeno Rho. Al recibir la madre eritrocitos a través de la barrera placentaria, otra posibilidad es que el antígeno Rh soluble sea segregado o no, pasando a la madre, con lo cual esta elaborara sustancias anti-Rho (D), que regresan al feto a través de la placenta, junto con otros componentes proteicos normales del suero, sensibilizando a los eritrocitos del feto. Esto lleva dispuesta la destrucción de los eritrocitos del niño, cuando los anticuerpos llegan a su circulación, y va seguido de complicaciones relacionadas con la producción compensadora de más hematíes, la necesidad de eliminar el exceso de hemoglobina soluble, la falta de oxígeno, los efectos de la ictericia sobre el sistema nervioso entre otras. El niño puede estar tan afectado, que muere antes del parto o poco después. Cuando las lesiones son menores se reflejan en la aparición de niños ictericos y anémicos. Para que sobrevivan puede ayudárseles con transfusiones de sangre de personas exentas del antígeno Rho (D) y de tipo sanguíneo compatible con el niño. Si éste sobrevive, la primera semana o algo más, después del nacimiento, es posible que no sufra efectos desagradables (Whitlan, 2000).



La ictericia nuclear (kenicterus), se da en zonas circunscritas de coloración amarilla en el encéfalo, que incluye sobre todo áreas nucleares, constituye una de las manifestaciones más graves de la entroblastosis fetal. Causa la muerte en plazo de una semana en el 70% de los lactantes que sufren tal complicación. Se ha comprobado que la lesión cerebral no existe al nacer, guarda relación con la concentración serica de la bilirubina, ya que se produce ictericia nuclear en el 50% de los recién nacidos cuya concentración serica de bilirubina es mayor de 30 mg por 100 ml. Se ha identificado a la bilirubina no conjugada como el pigmento existente en el cerebro de niños muertos con ictericia nuclear (Leavell, 1978)

El antígeno D tiene aproximadamente el 50% de los casos por aloimmunización maternal, los restos son debido principalmente a incompatibilidad por antígenos K, c, C/G, E y Fy<sup>a</sup> y una baja incidencia de antígenos en grupos sanguíneos Rh, MNS y Diego. Por esto la incompatibilidad feto-materna Rh representa la mayor causa de anemia hemolítica del recién nacido. Se emplean fototerapia ultravioleta y, ocasionalmente, transfusiones o igualmente transfusiones intradérmicas; procesos invasivos son usados como opción final en monitores y tratamiento para la enfermedad, debido a que estos ocasionan una pequeña fuga de eritrocitos fetales dentro de la circulación materna; medidas tales como la determinación de la densidad óptica del fluido amniótico y ensayos funcionales como tratamiento o diagnóstico (Avent, 2000)

Interesantemente; fetos con incompatibilidad ABO los Anti A/B maternos no dan una anemia hemolítica ya que es poco probable; presumiblemente debido a una remoción rápida de los eritrocitos ABO incompatibles llevada por los Anti A/B naturales. El número de copias del antígeno D por eritrocito es alto tiene en el haplotipo R<sub>2</sub> (un rango de 14,000-16,000) y en el haplotipo R<sub>1</sub> ( en un rango de 9,000-14,600); fetos cuyos eritrocitos tiene R<sub>2</sub> son más severas las anemias ya que duplican a R<sub>1</sub>, siendo esto más evidente en los fetos masculinos pero teniendo más severidad en los fetos femeninos la anemia hemolítica del recién nacido (Avent, 2000)

**9.4.2 Manifestaciones clínicas.** La eritroblastosis se observa en el 1%, aproximadamente, de los embarazos. La quinta parte de los niños afectados muere in útero o nacen gravemente enfermos con anemia (Leavell, 1978. [www.ujj-ujm, 2001](http://www.ujj-ujm.2001))

Muchos lactantes eritroblásticos parecen normales al momento de nacer, dado que la madre es capaz de excretar la bilirrubina fetal. Pero puede aparecer en un plazo de 2-3 horas, y aumentar rápidamente a menos que se establezca el tratamiento. En ocasiones, poco después del nacimiento se desarrollan hemorragias petequiales. En la enfermedad por Rh casi invariablemente hay hepatomegalia y esplenomegalia. Cuando la eritroblastosis depende de incompatibilidad A o B el bazo suele estar aumentado de volumen, pero en menor grado que con el Rh. El edema pulmonar, los derrames pleurales, la ascitis y el edema generalizado pueden ser manifestaciones de insuficiencia cardíaca. La ictericia nuclear, que suele manifestarse tarde en el segundo día de vida, es rara en ausencia de la ictericia intensa. Todo recién nacido que sufre eritroblastosis debe examinarse neurológicamente con todo cuidado y muy repetidamente. En la primera etapa la ictericia nuclear puede acompañarse simplemente de signos neurológicos mínimos fácilmente inadvertidos, es más intensa, el lactante afectado emite gritos en tono alto, está irritable, tembloroso, y tiene reflejo de Moro hiperactivo o sea movimientos rápidos sin control, pero incompleto, puede haber asimismo opistótonos, convulsiones, contorsiones y molestias respiratorias. Si el niño con ictericia nuclear sobrevive pueden quedar secuelas como sordera, retraso mental, movimientos atetoides y ataxia espásmica. En los niños que presentan un cuadro más grave, y cuya hemoglobina en sangre de cordón es inferior a 7.5 g por 100 ml, es frecuente que la muerte se deba ha hemorragia pulmonar (Leavell, 1978)

#### **9.4.3 Exámenes de laboratorio.**

Se ha considerado que hay anemia si la concentración de hemoglobina en la sangre del cordón contiene menos de 13 g por 100 ml, si la concentración en sangre venosa es menor de 15g por 100 ml o la hemoglobina en la sangre capilar es menor de 16 g por 100 ml en el primer día de vida. Una concentración hemoglobinica menor de 9 g por 100 ml al nacer indica una anemia grave. Suele haber reticulocitos. Un porcentaje elevado de reticulocitos indica proceso hemolítico grave, incluso si se acompaña de hemoglobina. Suele haber eritrocitos nucleados en sangre periférica, pero en la tercera parte

de los casos pueden estar ausentes el primer día. Habitualmente no hay esferocitos cuando existen anticuerpos Rh. De ordinario esta aumentado el número de leucocitos, dato de poco valor pronóstico. En casos graves es frecuente la trombocitopenia (Leavell, 1978)

Se considera que la concentración normal de bilirrubina sérica en la sangre del cordón es de 0.8 a 2.6 mg/100ml, y rara vez una cifra superior a 4 mg por 100 ml en la eritroblastosis. La concentración de bilirrubina sérica de reacción indirecta en los recién nacidos en 48 horas rara vez es mayor de 13 mg por 100 ml. En el caso de eritroblastosis la concentración puede ser normal al nacer y aumentar rápidamente. Por tal motivo en el tratamiento es de primordial importancia (Leavell, 1978)

Se puede considerar realizar pruebas de titulación de anticuerpos anti-Rh, este estudio sirve para verificar los anticuerpos anti-Rh en la embarazada de tipo Rh negativo cuya pareja es Rh positivo. Si la mujer Rh negativo tiene un feto Rh positivo, el antígeno de los eritrocitos fetales provoca la producción de anticuerpos en el suero materno. El primer hijo suele ser sano pero, con los embarazos subsecuentes, aumentan los anticuerpos séricos de la madre y finalmente destruyen los eritrocitos del feto. Normalmente el valor normal es de cero (Talask, 1997)

Prueba de la Roseta, eritrocitos fetales (sangre feto-materna). Esta prueba sirve para identificar eritrocitos en circulación materna y es primordial en el diagnóstico de anemia del recién nacido cuando se sospecha de hemorragia feto-placentaria y riesgo de inmunización materna contra el grupo de los eritrocitos fetales. En este caso, tomar una muestra de sangre de la madre inmediatamente después del parto para buscar eritrocitos fetales. La prueba de roseta tiene una precisión de 97% en la detección de hemorragia feto-materna mayor de 30 mililitros (Talask, 1997)

Prueba de Kleihauer-Betke o tinción de hemoglobina fetal, esta prueba cuantifica la hemorragia feto-materna en la madre RhD-negativa y la cantidad de Rhlg (Rho GAM) necesaria para prevenir complicaciones en el futuro. Esta prueba se realiza después del término del embarazo cuando hay anemia en el recién nacido o cuando la madre es Rh negativa o D<sup>o</sup> negativa (Talask, 1997)

#### 9.4.4 Diagnóstico

La eritroblastosis fetal debe distinguirse de otras causas de anemia, como esferositosis hereditaria y hemorragia, y otras causas de ictericia, como hepatitis infecciosa, infecciones bacterianas, sífilis, enfermedad de inclusión citomegálica y micosis, que pueden observarse durante los primeros días de vida. Hay eritrocitos nucleados en la sangre periférica en diversos trastornos, pero la aparición de un número elevado de normoblastos o reticulocitos suele indicar que existe una enfermedad hemolítica, del tipo que sea (Leavell, 1978)

Hay que determinar el tipo sanguíneo ABO, y buscar sistemáticamente la presencia de factor Rh en todas las mujeres embarazadas, si la futura madre es Rh negativa, hay que determinar el Rh del padre, y en la madre hay que

investigar una posible sensibilización a los siete meses, y a los dos o tres semanas del parto. Si entonces no se descubren anticuerpos anti-Rh la eritroblastosis es poco probable; si hay anticuerpos cual sea su concentración, la paciente debe de estar alerta ante la presencia de la enfermedad. El diagnóstico se establece definitivamente por una prueba positiva de Coombs (antiglobulina) con eritrocitos fetales (sangre del niño o del cordón), si el padre es Rh-positivo hay que vigilar cuidadosamente a la madre en busca de sensibilización durante cada embarazo; en el caso que los embarazos precedentes fueron normales no garantiza que no se puede desarrollar enfermedad isoimmune en embarazos posteriores (Sell, 1981, Singleton & Gree, 2000)

Se ha identificado un pseudogen RHD (RHD<sub>v</sub>) en Rhd negativos africanos, este consta de 37 pb insertadas en el exon 4, el cual introduce un codon stop en la posición 210. La inserción es una secuencia de duplicación a través del límite del intron 3 y exon 4. RHD<sub>v</sub> contiene otro codon stop en el exon 6. La frecuencia de RHD<sub>v</sub> en sudafricanos de color D negativos es de aproximadamente 0.0714, 66% tienen RHD<sub>v</sub>, 15% tienen un gen híbrido RHD-CE-D asociado con el fenotipo VS+V, y únicamente 18% carecen completamente de RHD. RHD<sub>v</sub> está presente en el 24% de los africanos americanos D-negativos y 17% de los sudafricanos esto debido a la mezcla de razas. No se puede detectar la transcripción de individuos con RHD<sub>v</sub>, probablemente como un resultado de una error del DNA mediante una decaída del mRNA. Existen métodos basados en PCR para predecir el fenotipo D desde el DNA es confortable en testigos africanos o toda la población contiene una proporción sustancial de gente con procedencia africana (Singleton, Gree, 2000) Es asociado a un alelo mayor mediante una mutación enviada en G314V, y varios alelos representados por RHD-CE-D (Wagner, Trohmer, 2001)

**9.4.5 Profilaxis.** Un adelanto considerable en el tratamiento de la enfermedad hemolítica Rh, ha sido la administración de una cantidad adecuada de globulina gamma anti-Rh a una madre Rh negativa, antes de las 72 horas de haber terminado el parto de un hijo Rh positivo, evitando la sensibilización para el antígeno Rh en casi todas las pacientes tratadas, la proporción de fracasos de esta terapéutica es del 1% o menor. La protección natural depende de la destrucción por anticuerpo de eritrocitos fetales antes que la madre sufra una exposición suficiente al antígeno Rh para inmunizarse. De forma similar la administración pasiva de globulina gamma anti-Rh impide la sensibilización de la madre Rh-negativa por eritrocitos fetales Rh-positivos (Leavell, 1978)

Este tipo de profilaxis no es útil para la madre que ha sido sensibilizada. Por lo tanto las madres con un título elevado anti-Rh que dan a luz a un hijo Coombs positivo no deben tratarse con globulina gamma anti-Rh, pues ello no evitara una respuesta. Todas las madres Rh negativas que están en peligro de sensibilizarse deben de recibir dosis adecuadas de globulina gamma anti-Rh inmediatamente después del parto (Leavell, 1978)

Para la prevención del producto materno siguiendo una administración profiláctica de inmunoglobulinas Rh anti-D, se tienen como responsables los mecanismos inmunológicos en donde, los anticuerpos bloquean e inhiben la

respuesta inmune central mediante una realimentación negativa en el hígado. En algunas instancias, tienen recombinaciones hechas al administrar anti-D, se seleccionan las madres del tipo D<sup>VI</sup> como D negativo y así, asegurar a tales madres, recibiendo automáticamente terapia profiláctica con inmunoglobulinas Rh siguiendo también el embarazo (Avent, 2000)

La preparación para la administración profiláctica con inmunoglobulinas Rh, se proponen usualmente inyecciones intramusculares. Sin embargo, algunos productos aprovechados por la inyección intramuscular son usados para el tratamiento de trombocitopenia idiopática (Avent, 2000).

Restricciones legislativas por voluntarios D negativos inmunizados con eritrocitos D positivos son responsables en parte de la declinación de la fuente para respuesta policlonal anti-D. Para la clínica, se tiene la posibilidad de explorar y probar los usos de anti-D monoclonales y así prevenir la aloinmunización anti-D. Es la profilaxis sin embargo el uso en vivo de anticuerpos monoclonales derivan en transformaciones celulares controversialmente. Esto es posible recombinando formas de anti-D, pueden prepararse como un producto profiláctico inyectable al emplearse la profilaxis frente a los antígenos Rhesus se ha reducido notablemente la incidencia de la anemia hemolítica del recién nacido debido a esta incompatibilidad (Fig. 38) (Roitt, 1997, Avent, 2000)

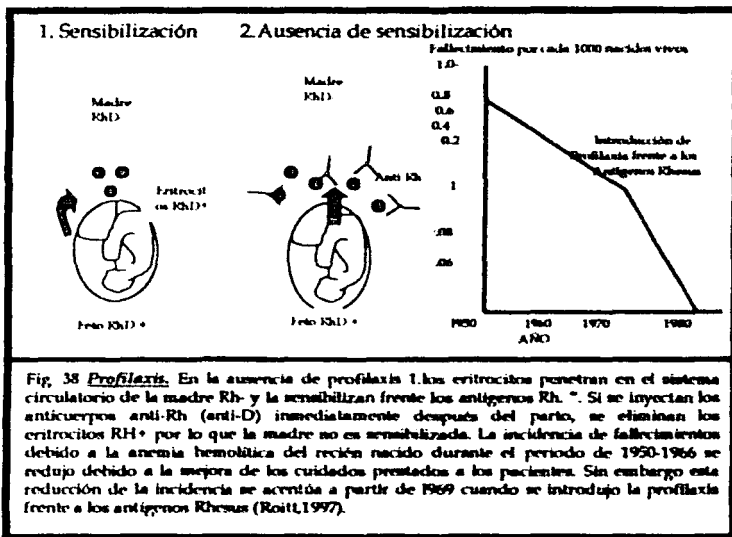


Fig. 38 Profilaxis. En la ausencia de profilaxis 1. los eritrocitos penetran en el sistema circulatorio de la madre Rh- y la sensibilizan frente los antígenos Rh. Si se inyectan los anticuerpos anti-Rh (anti-D) inmediatamente después del parto, se eliminan los eritrocitos RH+ por lo que la madre no es sensibilizada. La incidencia de fallcimientos debido a la anemia hemolítica del recién nacido durante el periodo de 1950-1966 se redujo debido a la mejora de los cuidados prestados a los pacientes. Sin embargo esta reducción de la incidencia se acentúa a partir de 1969 cuando se introdujo la profilaxis frente a los antígenos Rhesus (Roitt, 1997).



**9.4.6 Tratamiento.** Los recién nacidos con eritroblastosis fetal deben tratarse en un hospital bien equipado, por personal que vigile la evolución del proceso y lleva a cabo una transfusión de recambio en cualquier momento del día o de la noche. Una vez establecido, el tratamiento dependerá de la gravedad del proceso. La terapia se dirige a evitar la ictericia nuclear, dependiente de la acción tóxica de la bilirubina no conjugada sobre las células del cerebro. Las indicaciones para las transfusiones de recambio en casos de eritroblastosis fetal, resumidas por Allen y Diamond.

1. Anemia:

2. Aumento de la bilirrubina sérica ( de reacción indirecta); se efectuarán transfusiones de recambio tan frecuentes como resulten necesario para mantener una concentración sérica menos a 20 mg por 100 ml.

3. Prematuridad, excepto en casos más leves.

4. Antecedentes de un hijo nacido previamente con ictericia nuclear.

5. Reticulocitos mayor de 15%

6. Título materno anti-Rh de 1.64 o mayor

En general se deben de mantener transfusiones (Leavell, 1978) Otra forma de emplear la inmunoglobulina Rho intravenosa (anti-D-IGIV) es en pacientes con trombocitopenia púrpura ( Gaines, 2000).

El descarte de D negativos en madres es particularmente de interés clínico, mediante un anti-D; el riesgo de afectar al niño es 100% con un padre RHD+/RHD+, pero únicamente el 50% con padre RHD positivo/ RHD negativo. Se aprovechan varias aplicaciones en la determinación cigótica o del cigoto:

1. Una simple suposición basada dentro del fenotipo es correcta en aproximadamente un 95% de todos los casos.
2. Determinación de la densidad antigénica D, la cual puede ser confundida por factores tales como la presencia de antígeno C.
3. Varios métodos involucran la cuantificación paraleta, ampliando secuencias específicas de RHD negativo y RHCE, sin embargo estas técnicas no se practican en laboratorios rutinariamente (Wagner & Flegel, 2001)

### **9.5 Genotipos prenatales Rh.**

El beneficio potencial de identificar un feto cuyos eritrocitos son predeterminados como antígenos negativos, es de enorme necesidad para que la utilización de técnicas sea mínima. El DNA fetal puede obtenerse desde amniocitos, limpieza vaginal, y sangre materna. Se siguen clonaciones y secuencias de RHCE y RHD, basados en ( PCR), análisis de DNA obtenido desde amniocitos testigos para su reporte. Sin embargo, la diversidad de los genes Rh, particularmente entre personas de color y japoneses, tienden a reducir esta proximidad porque se pueden dar falsos positivos o falsos negativos. El diagnóstico prenatal de fetos RHD empleando diferentes estatus estructurales de los genes RHD y RHCE, esta basado dentro de la suposición de individuos D negativos, estos tienen una delección del gen RHD, observando las bases moleculares, despejando antígenos parciales D, usando heteroduplex y múltiples secuencias específicas de reacciones de PCR, teniéndose un reemplazo del ensayo genotípico sencillo del exon en un intento de invalidar tipificaciones "falsas negativas" en fetos con un antígeno parcial D

Sin embargo, en fetos cuyos eritrocitos tienen antígenos parciales D es rara la anemia hemolítica del recién nacido. La evaluación clínica de múltiples análisis RHD tienen únicamente valoraciones agregadas marginalmente (Avent, 2000).

Todos los ensayos genotípicos comunes de RHD para personas cuyos eritrocitos son D negativos y llevan un no funcional RHD intacto, descritos en personas Caucásicas (raro), gente de color Africana (común) y Asiático (común). El genotipo molecular tiene límites clínicos, utilizados en poblaciones en donde la presencia de RHD no es expresada frecuentemente, el fondo molecular de estos fenotipos D-negativos son usados de emergencia, como ejemplo: al expresarse en dos personas Caucásicas el fenotipo dCe, uno tiene dentro de un fragmento el condón stop en el exon 1 del gen RHD y el otro paciente una delección de cuatro nucleótidos en el exon 4. Muy recientemente las bases moleculares del mayor alelo silencioso RHD (nombrado RHD<sup>1\*</sup>) se encontró en personas de descendencia Africana, tiene 37 pb en una inserción de DNA, seguida de una duplicación del intron 3 en el límite del exon 4, y tienen mutaciones enviadas en el exon 5 forma de errores; y mutaciones enviadas en el exon 6. El fenotipo D<sub>u</sub> (ejemplo El Antígeno de es sólo detectable por la prueba de adsorción-elusión) se ha pensado que se tiene una delección de 1013 pb comprendidas en el intron 8, exon 9 e intron 9 (Fig. 31) (Avent, 2000).

Claramente, se sabe que grupos étnicos de dos parientes ayudan a la selección de testigos apropiados al genotipo. Sin embargo es posible, un pool de genes limitado, análisis comunes de fenotipos sanguíneos maternos y paternos, y se muestran los genotipos. Esto no es de valor, estos tienden a ser empleados por instrumentos clínicos automatizados con lo cual a menudo son contaminados con muestras anteriores (Avent, 2000).

Los análisis moleculares son convenientes, más comunes, son de valor ya que perpetúan algunas variantes D más comunes deliberadas anteriormente. Un ejemplo de esto es el gen híbrido que codifica el fenotipo D<sup>1\*</sup>, el cual tiene recientemente a ser mostrado presente en el 18% de las personas de color en Nueva York y 28% en las personas de color de Brasil. Además, una similar reactividad paterna más se obtiene con la prueba de eritrocitos de personas con diferentes genes Rh anti-D monoclonal. Esto es ilustrado por el largo número de eventos monoclonales asociados con D<sup>1\*</sup> (o un probable D<sup>1\*</sup>-) como ejemplos definidos por la reactividad parcial C/ anti-D monoclonal. No todos los eventos moleculares dan un antígeno D<sup>1\*</sup>, en la presencia dentro de los eritrocitos de la categoría D<sup>1\*</sup> (Avent, 2000).

Aunque la enfermedad hemolítica debida a otros anticuerpos Rh es poco frecuente. La prueba de bases-PCR tiene a ser designada a definir alelos RHCE usando DNA derivado del feto. Más estos son relativamente imparciales; sin embargo, genotípicamente C en la presencia de D es difícil porque RHC(E/e) y RHD tienen secuencias idénticas en el exon 1 y 2. El tipo Rhc es posible mediante aplicación de un polimorfismo en el intron 2 o el RHCE, el cual rodea a 109 pares de bases insertadas en el DNA de RHC (E/e) pero no Rhc (E/e o RHD) (Avent, 2000).

## 9.6 Genotipos no invasivos prenatales Rh

Esto es ahora posible al obtener DNA derivados del feto usando procedimientos no invasivos. El RHD derivado fetalmente tiende a ser detectado por análisis de PCR anidando dentro del NDA geonómico (gDNA) extraído de la sangre periférica o plasma materno o desde muestras transcervicales. Una próxima alternativa es usar templates derivados de cDNA por PCR transcriptasa reversa de la sangre periférica materna y detección de blancos de mRNA provenientes del RhD fetal. Todo proceso no invasivo tiene valores normales, debido a que no son caminos convenientes de acceso, la presencia de células fetales en la muestra dada y, así pueden no ser resultados negativos interpretados acertadamente. No obstante, El factor derivado Rh del mRNAs y gDNA fetal puede ser detectado en sangre materna indicando el diagnóstico prenatal teniendo un impacto en el feto. Sin embargo, esto es posible con nucleación de eritrocitos fetales son los blancos más adecuados, este tipo de células para diagnóstico no invasivo, porque otras células CD34 positivo derivadas del feto tienden a ser detectadas en sangre materna tan largo como 27 años postparto y así se puede interferir con los análisis en la mujer que tiene múltiples embarazos (Avent, 2000)

## 9.7 Rh y otros estados de enfermedad.

La enfermedad Rh null, personas cuyos eritrocitos tienen el fenotipo Rh null (sinónimos: Síndrome Rh null, Enfermedad Rh null) carecen de la proteína Rh y así el antígeno Rh. Este fenotipo es raro (aproximadamente 1 en  $6 \times 10^6$  individuos) y más a menudo resulta de hermanamientos consanguíneos. El síndrome se asocia con estomatosis, esferocitosis, incrementa la fragilidad osmótica, altera la asimetría fosfolipídica, altera el volumen celular, deficiencia de flujos cationicos, y eleva la actividad de ATPasa,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ . Los eritrocitos Rh null tienen más una vida media más corta, y la persona tiene una benigna anemia hemolítica compensada (Avent, 2000) La anemia se caracteriza por una disminución ligera de hemoglobina y hematocrito, y la presencia de esferocitos. (www.bnc Medlabs, 2001)

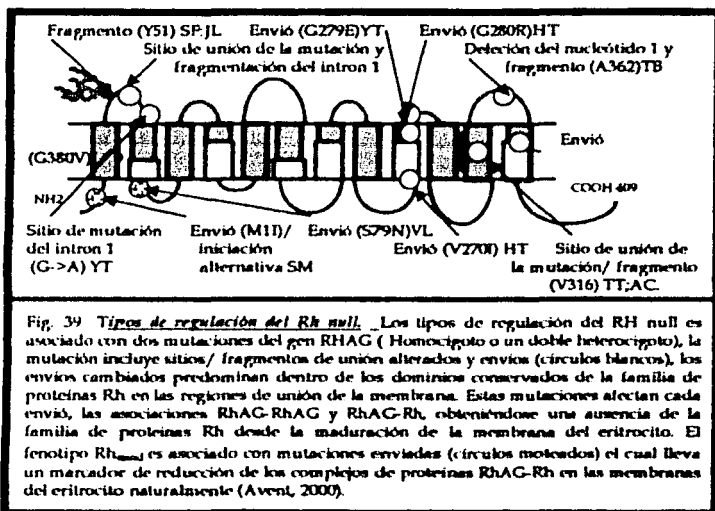
El anti-Rh29 reacciona con los eritrocitos de todos los tipos excepto con los Rh null; pueden estar aumentados los antígenos M, N, En<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, Kidd, Dombrock, e, i y disminuidos S, s y U (Henry, 1993)

Se tienen dos tipos de Rh null, amorfo y regulador. Esta clasificación histórica se basa dentro de la anemia paterna, es ahora conocida como tipo amorfo, el resultado de cambios moleculares en el RHCE uno de tras de otro con una delección RHD (Fig 39) Considerando que el tipo regulador es asociado con un defecto molecular en RHAG pasando a ser RhAG aparentemente crítico para el correcto ensamblaje de las proteínas Rh en la membrana del eritrocito, RhAG por el mismo puede formar complejos estables, aunque en reducción cuantitativa, en ausencia de proteínas (Avent, 2000)

Pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC), metaplasia mieloide, policitemia, o mielofibrosis ocasionalmente tienen dos poblaciones de eritrocitos de diferentes tipos de Rh. En algunos casos, pocos antígenos Rh son

membrana del eritrocito, RhAG por el mismo puede formar complejos estables, aunque en reducción cuantitativa, en ausencia de proteínas (Avent, 2000)

Pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC), metaplasia mieloide, policitemia, o mielofibrosis ocasionalmente tienen dos poblaciones de eritrocitos de diferentes tipos de Rh. En algunos casos, pocos antígenos Rh son asociados con aberraciones cromosomales. Recientes análisis de sangre de pacientes fenotipo D positivo con LMC conciben convenientemente D negativo mediante tres años se estudio observando una delección en el exon 4 del RHD esto ocurre por mutaciones somáticas (Avent, 2000).



## 10. DISCUSIÓN

Mediante el presente trabajo se dan a conocer los diferentes tipos de Rh que pueden existir en las poblaciones, remarcando la importancia de dar un buen diagnóstico respecto al Rh positivo y Rh negativo en las personas, y que este último en realidad si es negativo y que no sea algún subtipo, ya que debido a su alta diversidad es imposible saber si el empleo de un suero anti-D monoclonal se obtiene un buen resultado el cual sea confiable, en la actualidad se crean algunos sueros con anticuerpos IgG e IgM para una mejor determinación.

Esto es debido en la actualidad al alto índice de mezclas étnicas que existen y en donde sólo se encontraba un fenotipo, se localiza no sólo en este sino en otros sitios que no se tenían en cuenta hace años, de aquí la importancia de realizar una buena determinación del Rh, debido a los fenotipos que crean una hemólisis alta, creando anticuerpos en la persona que carece de este, dándose por una transfusión o en mujeres con Rh negativo y fetos Rh positivos.

En la actualidad se emplean un gran número de pruebas para determinar si en realidad se tienen un Rh negativo puro, o es débil o parcial, de los cuales se determina el fenotipo al cual pertenece, la diversidad del antígeno se da por mutaciones y delección dentro de ciertos aminoácidos lo que confiere fenotipos distintos con un solo camino

Su importancia es la de evitar en gran parte anemias hemolíticas en el recién nacido y que se realicen transfusiones en donde se encuentren presentes anticuerpos contra el tipo de Rh del individuo, provocado por un mal diagnóstico y una sensibilización previa del donante hacia el tipo Rh del receptor, al igual que evitar sensibilizaciones a madres, que tienen el riesgo de tener un feto de otro tipo de Rh, con lo cual se realizarían transfusiones adecuadas únicamente

## 11. CONCLUSIONES.

Dentro de los avances genéticos que se han tenido dentro del sistema Rh, se encuentra la localización de los genes RHD y RHCE dentro del cromosoma 1; en la banda 4, en la región del brazo corto, subbanda 1 a lo largo de la banda 6; (1p36.1-p34) y los que codifican para las glicoproteínas Rh en el cromosoma 6; en el brazo corto, regiones 2 y 1; banda 1, subbanda 1, a lo largo de la banda 1; (6p12.1-p11). Los genes se encuentran dentro de 10 exones, los cuales codifican para diferentes partes de 1 antígeno Rh, del 1-7 para los aminoácidos 50-60, del 8-10 los 58 residuos de carbono terminal son codificados en ellos al igual que las proteínas; el cuarto intron RhD contiene una delección de 60 pb., los dos genes codifican para polipéptidos sin glicosilar, acilación de ácidos grasos, polipéptidos; y contiene 417 aminoácidos de todos estos son diferentes en sólo 36 aminoácidos; se conservan del amino terminal los primeros 42 aminoácidos en ambos casos, y el carbono solo 4 de 84 aminoácidos son diferentes

Las proteínas acarreadoras Rh son expresadas dentro de a superficie del eritrocito, si esta presente RHAG, se piensa que interactúan con la membrana por medio de acetilaciones con los residuos de ácido palmítico, atacando las partes de la cadena en el residuo de Cisteína; que se localiza en el citosol y la bicapalipídica, en el orden Cys-Leu-Pro; encontrándose dos en RhD y tres en RhCcEe.

El grupo sanguíneo Rh abarca un mínimo de 45 antígenos, el RhD tiene un mínimo de 37 epitopos, en los rearreglos se dan mutaciones con lo cual se pierden epitopos D; produciendo fenotipos parciales D, el más frecuente es el D<sup>VI</sup>, se describe por una conservación en los exones 4, 5 y 6 de los genes RHD siendo remplazados por sus equivalentes de RHCE, y en la delección donde son perdidos.

El fenotipo Rh null es muy raro, pero ocurre por un tipo regulador, causado por la homocigosis de un gen autosomal raro ( $X_{rh}$ ), que es el responsable de la suspensión del antígeno Rh y un tipo amorfo el cual es raro y al estar alto dentro de la homocigosis el gen RHD se encuentra ausente

Los fenotipos variantes Rh están a lo largo, se conocen cuatro mecanismos que son

1. Rearreglos RHCE y RHD.
2. Puntos de mutación en los genes provocando cambios en los aminoácidos.
3. Mutaciones sin sentido
4. Delección de nucleótidos.

El sistema Rh tiene un papel importante dentro del eritrocito, debido la homología que comparte con algunas permeasas de transporte de metilamina y de amino, provenientes de levaduras, bacterias y plantas simples, por lo que es considerado como un transportador de amonio, el cual es cambiado por otros cationes. Junto con las proteínas accesorias tiene diferentes funciones, al encontrarse con la proteína asociada a integrinas, que es la transportadora de

Ca<sup>2+</sup>, se encuentra en niveles normales si esta presente el Rh, pero en su ausencia se encuentra disminuida dentro de la membrana; al igual tiene que ver con la vida media del eritrocito ya que disminuye en su ausencia, se encuentran deformaciones en estos como ovalocitos; con lo cual se crea una anemia hemolítica benigna.

A nivel clínico se ha demostrado que las personas que son D negativo en un 80%, producen una respuesta al administrarse 200 ml de sangre Rh positivo, de aquí la necesidad de comprobar que sean en realidad Rh negativo, debido a la presencia de fenotipos parciales y débiles como D<sup>VI</sup> capaz de producir una respuesta igual o más intensa que la producida por los D positivo; el problema es la elaboración de los reactivos para identificar los diferentes fenotipos parciales y débiles e incluso del tipo D, esto es dado por la alta mezcla de razas, el difícil aislamiento y mantener los sueros tipificadores, ya que se degradan fácilmente si las condiciones no son las adecuadas dentro de su elaboración y mantenimiento.

De rutina se realizan la detección de los Rh que se consideran étnicos del lugar y para los problemas no se tiene fácilmente los antisueros debido a que no se realizan de rutina, produciéndose al haber incompatibilidad del Rh en los niños una anemia hemolítica, teniendo gran importancia, presentándose hepatomegalia y esplenomegalia, se manifiesta una ictericia nuclear al segundo día de nacido, habiendo una ictericia intensa permanente, además hay que examinar al recién nacido neurologicamente.

Los exámenes de laboratorio que se realizan es la medición de la hemoglobina, reticulocitos, eritrocitos nucleados, anticuerpos Rh, concentración de bilirrubina, se realizan las pruebas de roseta y prueba de Kleihauer-Betke o tinción de hemoglobina fetal, sirviendo para el diagnóstico. Se han identificado un seudogen RHD que es RHD<sup>VI</sup> en personas negativas con descendencia africana, consta este de 37 pb, también es causante de la anemia hemolítica para el diagnóstico se emplea PCR, al igual que para los otros genotipos parciales, estos pueden ayudar a dar un tratamiento adecuado y a predecir el futuro Rh del feto, el único problema es que no son técnicas que se puedan realizar de rutina en los laboratorios normales, para esto se puede obtener sangre del cordón o eritrocitos del feto que se encuentran en circulación materna, en la actualidad se sigue empleando la profilaxis y medición de anticuerpos anti-Rh para evitar las complicaciones

## 12. GLOSARIO.

**Adenosina trifosfato (ATP):** Una molécula que sirve como transportador universal de energía y agente de transferencia en los procesos bioquímicos.

**Aglutinación:** Acción y efecto de agrupar o pegar. 2 Agrupamiento de células difusamente distribuidas en el líquido.

**Aglutinógeno:** Anticuerpo que provoca aglutinación de células, particularmente eritrocitos. 2. Cualquier sustancia que provoque aglutinación.

**Alelo:** Cada una de las distintas variantes de un locus génico dentro de una misma especie.

**Alloanticuerpo:** (Isoanticuerpo) Término empleado fundamentalmente en banco de sangre e inmunopatología para designar anticuerpos producidos por un individuo, que reaccionan con antígenos de otro individuo de la misma especie.

**Anemia Hemolítica:** Presenta destrucción de eritrocitos, o sea, una disminución de la vida media del eritrocito, se divide en congénitas y adquiridas.

**Antígeno:** Es cualquier sustancia que cuando es introducida a un individuo estimula la formación de anticuerpos, formado previamente en los receptores específicos de los linfocitos

**Anticuerpo:** Molécula producida por los individuos como respuesta a un antígeno, tiene la propiedad de combinarse específicamente con el antígeno que indujo su producción

**Anticuerpo caliente:** Es el anticuerpo que reacciona mejor a 37 °C que a temperaturas más bajas como la ambiental.

**Anticuerpo frío:** Aquel cuya temperatura óptima de reactividad se da mejor en frío o sea a temperatura ambiente, y no a 37 °C.

**Canales iónicos:** Poros que se encuentran en las proteínas integrales de membrana que se pueden abrir y cerrar como compuertas

**Carboxilo terminal:** El aminoácido de un extremo de una cadena polipeptídica que tiene un grupo carboxilo alfa que no ha reaccionado o que está como un derivado

**Cis:** Genes que se encuentran en la posición Cis, es decir, situados sobre el mismo cromosoma

**Clonación genética:** Producción de un número grande de copias de un segmento de DNA después de que dicho segmento de DNA sea insertado dentro de un vector e introducido en una célula. La clonación tiene lugar cuando el vector se replica.



**Codominancia:** Relación entre los alelos tal que el fenotipo del heterocigoto muestra la expresión individual de cada alelo.

**Codón:** Una secuencia de tres bases de nucleótidos del mRNA que interactúa con un anticodón del tRNA, especifica la incorporación de ciertos aminoácidos en un polipéptido.

**Codón de terminación (stop):** Cada uno de los tres tripletes UAG (ámbar), UAA (ocreo) o UGA que provocan la terminación de la síntesis de proteínas; también se les denomina codones sin sentido.

**Complemento:** Grupo de proteínas séricas que intervienen en los procesos inflamatorios, en la activación de los fagocitos y en los ataques líticos a las membranas celulares.

**Eritroblastosis:** Presencia de eritrocitos nucleados en la sangre circulante. Estos eritrocitos que normalmente se encuentran en número pequeño aumentan en forma considerable en condiciones que causan hemólisis.

**Eritropoyesis:** Formación de eritrocitos maduros no nucleados sumamente especializados, a partir de células precursoras primitivas de la médula ósea.

**Esplenomegalia:** Estado caracterizado por agrandamiento del bazo.

**Exon:** Región del DNA que codifica para la transcripción; lo contrario a un intron.

**Fenotipo:** Las características físicas que expresa un individuo.

**Gen:** Es una porción de cromatina con arreglo lineal a lo largo de los cromosomas, que controla el desarrollo de una característica heredada.

**Genotipo:** El material genético heredado de los progenitores, sólo se suele expresar parte del mismo. Características no expresables en un individuo.

**Glucoproteínas:** Proteínas que contienen unidades de carbohidratos unidas por medio de enlaces covalentes.

**Haplotipo:** Conjunto de determinantes genéticos situados en uno de los cromosomas heredados.

**Hepatomegalia:** Agrandamiento del hígado.

**Heterocigoto:** Individuos que tienen alelos diferentes en los loci correspondientes de un par de cromosomas homólogos.

**hnRNA(ARN heteronuclear):** Parte del RNA nuclear que procede de la transcripción del ADN y que aún no ha sido procesado para dar lugar a mRNA.

**Homocigoto:** Individuos que en apariencia tienen alelos idénticos en los loci correspondientes de un par de cromosomas homólogos.

**Imunofluorescencia:** Técnicas para identificar microscópicamente determinantes antigénicos en tejidos o células, mediante su unión a un conjugado de anticuerpos y una molécula fluorescente.

**Intron:** Región del DNA que no codifica; lo contrario de un exón.

**Leucopenia:** Disminución del número total de leucocitos sanguíneos.

**Locus:** Posición en que se encuentran situados un gen dentro de un cromosoma.

**Pronormoblasto:** (Normoblasto) Célula inmadura nucleada de la serie eritrocítica; es el más joven precursor reconocible del eritrocito.

**Radioinmunoanálisis (RIA):** Una serie de diversas técnicas muy sensibles para determinar la concentración de antígenos o anticuerpos mediante reactivos marcados radiactivamente.

**Trans:** Genes que se encuentran en la posición Trans. es decir, en cromosomas opuestos.

**Transcripción:** Proceso por el que se sintetiza RNA utilizando DNA como molde.

**Transferasas:** Enzimas que catalizan la transferencia de un grupo funcional de una molécula a otra.

**Transferencia:** Proceso en el que las moléculas (en especial el DNA recombinante) se transfieren de genes a papel para el análisis genético.

**Trombocitopenia:** Disminución en el número de plaquetas sanguíneas.

**Xenogénico:** Se aplica a las diferencias existentes entre las especies.

### 13. REFERENCIAS. BIBLIOGRAFÍA.

1. Barrett James T., INMUNOLOGÍA BÁSICA Y SU APLICACIÓN EN MEDICINA; Panamericana; Argentina, 1978
2. Benacerraf Barut, INMUNOLOGÍA, Panamericana; Argentina; 1990
3. Bernard Jean, Ledy Jean-Paul & Varet Bruno, MANUAL DE HEMATOLOGÍA, 3 ed.; Toray-Masson, S.A.; España, 1982
4. Coombs Gell, & Lachman, CLÍNICA INMUNOLÓGICA; 2 ed.; Salvat editores, S.A. de C.V., España, 1980
5. Cushing J. E. & Campbell D. H., PRINCIPIOS DE INMUNOLOGÍA, Acribia; Zaragoza, España, 1960
6. Dodd Bárbara E. & Lincon Patrick J., INMUNOLOGÍA DE LOS GRUPOS SANGUÍNEOS; Manual Moderno, D.F., México, 1976
7. Easthon R.D., Slade R.R.; CLINICAL HEMATOLOGY, 7 ed.; Burlthow, Hememann, Oxford, London, 1993
8. Elger Klaus D.; IMMUNOLOGY UNDESTANDING THE IMMUNE SYSTEM; Wiley-Liss; U.S.A., 1996
9. Fischbach Frances, Talask MANUAL DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS; 5 ed.; Mc Gran-Hill Interamericana. México, 1997
10. Fridman Wolf Herman & Sautes Catherine, CELL-MEDIATED EFFECTS OF IMMUNOGLOBULINS, Chapman & Hall; N.Y., U.S.A. 1996
11. Fudenberg H. Hugh, INMUNOLOGÍA CLÍNICA; Manual Moderno, México; 1978.
12. García Tamayo Fernando, FUNDAMENTOS DE INMUNOLOGÍA; UNAM; México, 1997
13. Gngwaschl Victor José, DIAGNÓSTICO CITOLOGICO DE LAS HEMOPATIAS, Panamericana. España, 1991
14. Hall Roger, MEDICAL LABORATORY HEMATOLOGY; 2 ed.; Burlthow, Hememann, Oxford, London, 1991
15. Hadsos Leslie, Has Franc, C., PRACTICAL IMMUNOLOGY; 3 ed.; Blackwell Scientific Publication; Oxford, London, 1989
16. Hardisty R.M. & Weatherall J. I., BLOOD AND ITS DISORDERS; Blackwell Scientific Publication, London, Great Britain. 1974
17. Henry John Bernard, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO CLÍNICO POR EL LABORATORIO, 9 ed.; Científicas y Técnicas, S.A., Masso, Salvat Medicina, Barcelona, España, 1993
18. Klensmith Lewis J., PRINCIPLES OF CELL AND MOLECULAR BIOLOGY, 2ed., Harper Colling, U.S.A., 1995
19. Dr. Leavell Byrds & Thorup Oscar A. Jr., HEMATOLOGIA CLÍNICA, 4 ed.; Nueva editorial Interamericana S.A. de C.V., D.F. México, 1978
20. Mezzano Diego, Pereira Jaime, Foradoa Arnaldo, FISIOLOGÍA DE LA SANGRE, 2 ed.; Impresos Universitaria, Chile, 1997
21. Poenie, Becker Reece, THE WORLD OF THE CELL; 3 ed.; Benjamin Cummings, N.Y. U.S.A., 1996
22. Rapaport Samuel I. M.D., INTRODUCCIÓN A LA HEMATOLOGÍA, Salvat editores S.A., España, 1980
23. Roitt Ivan INMUNOLOGÍA, 4 ed.; Harcourt Brace, España, 1997

24. Rossel Alan P.; HEMATOLOGY, DELMAR'S, CLINICAL LABORATORY, MANUAL SERIES; Internacional Thomson; U.S.A.; 1997
25. San Martín Hernán SALUD Y ENFERMEDAD; 4 ed.; Científicas la Prensa Medica Mexicana, S.A. de C.V.; México, 1992
26. Sell Harper Stewart, & Row; INMUNOPATOLOGIA INMUNOLOGIA E INMUNIDAD; 2 ed.; Latinoamericana; México, 1981.
27. Slites Daniel P. & Terr Abba; BASIC AND CLINICAL IMMUNOLOGY; 7 ed.; Appleton & Lance, U.S.A.; 1991
28. Whelar Lydyard, A PM & Farger MW INSTANT NOTES THE IMMUNOLOGY; Spring, N.Y., U.S.A., 2000
29. Whitlock Shertyl A. IMMUNOHEMATOLOGY, DELMAR'S, CLINICAL LABORATORY, MANUAL SERIES; Internacional Thomson; U.S.A.; 1997

### *HEMEROGRAFÍA*

30. Avent Neil D. and Reid Marion E.. The Rh blood group system: a review. Blood. 2000.95 375-387
31. Beckmann Roldand, Smythe Jonathan S., Anstee David J., Tanner Michael J. A.. Functional cell surface of band 3, the human red blood cell anion exchange protein (AE1), in K562 erthro leukemia cell: Band 3 enhances the cell surface reactivity of Rh antigens. Blood. 1998; 4428-4438.
32. Chirif-Zahar Baya, Matassi Giorgio, Raynal Virginic, Carton Pierre, De'launay Jean, Arrizabalaga Beatriz, Carton Jean-Pierre. Rh-deficiency of regulator type caused by splicing mutations in the human Rh50 gene. Blood 1998,92 2535-2540
33. Chirif-Zahar Baya, Matassi Giorgio, Raynal Virginic, Carton Pierre, Mampel Wolfgang, Perez Carmen, Carton Jean-Pierre. Molecular defects of the RHCE gene in Rh-deficient individuals of the amorph type. Blood. 1998,92 639-649
34. Event Neil D., Martin Peter G., Armstrong-Fisher Sylvia S., Lui Wendy, Massocks, Urbaniak Stainlaw J. Evidence of genetic diversity underlying RhD- weak D (D<sup>w</sup>), and partial D phenotypes as determined by multiplex polymerase chain reaction analysis of RHD gene. Blood 1997,89 2568-2577
35. Event Neil D., Lui Wendy, Jones Jeff W., Scott Marion L., Voak Douglas, Pisacka Martin, Julie Watt, Fleccher Anne. Molecular analysis of Rh Transcripts and polypeptides from individuals expressing the D<sup>ccEe</sup> phenotypes. Blood 1997,89 1779-1786
36. Hermker M.B., Ligthart P.C. T., Berger L., van Rhenen D.J., van der Schoot, C.E. Wijk P.A. Maaskant-van DAR, a new RhD variant involving Exons 4,5 and 7, often in linkage with ccAR, a new Rhce variant frequently found in Africans blacks. Blood 1999.94 4337-4342
37. Huang Cheng-Han, Liu Zhi, Cheng Guangjie, Chen Ying. Rh50 glycoprotein gene and Rh null Disease, a silent splice donor is trans to a gly 279→ Gluc missense mutation in the conserved transmembrane segment. Blood L998.92.1776-1784

38. Hyland C.A., Chérif-Zahar B., Cowley N., Rayna V. I., Cartron J.P. A novel single missense mutation identified along the Rh50 gene in a composite heterozygous Rh null blood donor of regulator type. *Blood*. 1998; 91:1458-1463
39. Maaskank-van Wijk, Beckers P.A. E.A.M., van Rhenen D.J. Evidence that the RHD<sup>o</sup> deletion genotype does not exist. *Blood*. 1997; 95:1798-1820
40. Mouro Y, Le Van Kim C., Rovillas C., van Rhenen D.J., Le Pennec P. Y., Bailly P., Cartron J. P., Colin Y. Rearrangements of the blood group RHD gene associated with the D<sup>o</sup> category phenotype. *Blood*. 1994;83:1129-1135.
41. Muller TH, Wagner F.F., Trockenbacher A., Eicher NI, Flegel W.A., Schonitzer D, Schunter F., Gassner C. PCR screening for common weak D lipos shows different distributions in three central European populations; *Transfusion*; 2000, 41: 45-52
42. Nucci Mary L., Abuschowski Abraham The treat of global shortages of blood and fears about contamination have hastened attempts to find life-sustaining alternatives, several of these compounds look promising. *Scientific American*. 1998,73-77
43. Reed Gaines Ann Acute onset hemoglobinemia and/ or hemoglobinuria and sequelae following Rho (D) immunoglobulin intravenous administration in immune thrombocytopenic purpura patients. 2000, 95:2523-2529
44. Simsek S., Faas B.H.N., Blecker P.M.M., Overbecke M.A.M., Cuijpers H. Th. M., Vander Schot C.E., Von dem Borne A.E.G. Kr. Rapid Rhd genotyping by polymerase chain reaction-based amplification of DNA. *Blood*. 1998,85:2975-2980
45. Singleton Belinda K., Green Carole A., Avent Neil D., Martin Peter G., Smart Elizabeth, Daka Abigail, Narter-Olaga Edwin G., Hawthorne Linda M., Daniels Geoff. The presence of an RHD pseudogene containing a 37 pair duplication and a nonsense mutation in Africans with the RhD-negative blood group phenotype. *Blood*. 2000,95:12-18
46. Smythe J.S., Avent N.D., Judson P.A., Parson S.F., Martin P. G., Anstee D. J. Expression of RHD and RHCE gene products using retroviral transduction of K562 cell establishes the molecular basis of Rh blood group antigens. *Blood*. 1996, 87:2968-2973
47. Sumaya Kimita, Li Hua, Zhu Alex. Surface expression of Rh-associated glycoprotein (RhAG) in nonerythroid COS-1 cell. *Blood*. 2000, 95:336-341
48. Wagner F.F., Ernst M., Sonnerborn H.H., Flegel W.A. A d(V)-like phenotype is obliterated by A226P in the partial D DBS. *Transfusion*; 2001, 41:1052-1058
49. Wagner Franz F., Flegel Willy A. RHD gene deletion occurred in the Rhesus box. *Blood*. 2000, 95:3662-3668
50. Wagner Franz F., Frohmayr, Flegel, Willy A. RHD positive haplotypes in D negative Europeans. *BioMed Central*. 2001, July 2-10
51. Zhang Dachuan, Kiyatkin Anatoly, Bolin Jeffrey T., Low Philip S. Crystallographic structure and functional interpretation of the cytoplasm domain of erythrocyte membrane band 3. *Blood*. 2000, 96:2925-2933

## *SITIOS DE INTERNET*

52. [www.brio.medlabsciencie.med.valberta.ca/de/rh/70rh-ab.htm/](http://www.brio.medlabsciencie.med.valberta.ca/de/rh/70rh-ab.htm/)
53. [www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/entrez/query?vid=](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/entrez/query?vid=)
54. [www.uni-ulm.de/~wfliegel/RH/MTA/mtaabb2.jpg](http://www.uni-ulm.de/~wfliegel/RH/MTA/mtaabb2.jpg)