



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**DETERMINAR LAS FRECUENCIAS DE ANTICUERPOS
AUTOINMUNES Y DE ALOANTICUERPOS EN PACIENTES
CON ANEMIA HEMOLÍTICA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUIMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A:
MARIA DEL PILAR MARTÍNEZ VÁZQUEZ

DIRECTOR DE TESIS:

Q.F.B. JOSÉ LUIS ALCARÁZ LÓPEZ

ASESOR DE TESIS:

Q.F.B. YOLANDA FLORES CABRERA



MÉXICO

2005



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

A DIOS POR PERMITIRME ALCANZAR UNA META MÁS EN MI VIDA.

A MIS ABUELITOS: JOSÉ DE JESUS, CHANITA, JOSÉ Y FLORENCIA MIL GRACIAS POR SU AMOR, POR ESTAR SIEMPRE JUNTO A MÍ, POR ENSEÑARME A PESCAR Y POR DARME UN PUNTO DE VISTA DIFERENTE DEL VALOR.

A MIS PADRES: JUANITA Y FELIPE POR SU PACIENCIA, APOYO Y SU CONFIANZA INCONDICIONAL. POR SER COMO SON, GRACIAS.

A VALECITO POR SU CARIÑO Y POR DARME ESOS JALONCITOS CUANDO FUERON NECESARIOS, POR SER APOYO CONSTANTE EN LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO, POR TU COMPRENSIÓN, MIL GRACIAS.

A MIS HERMANOS: MARIANA, MARTIN Y HAYDEE. POR SU CARIÑO Y PALABRAS SIEMPRE DE ALIENTO, POR SUS ACTITUDES POSITIVAS POR SU INTERÉS CONSTANTE, MUCHAS GRACIAS.

A MIS SOBRINOS: JENIFER, MALENY Y DIEGO ESPERANDO ALGÚN DÍA PODER APOYARLOS EN SU SUPERACIÓN, POR SU CARIÑO, Y POR ESOS MOMENTOS QUE ME DAN, MIL GRACIAS.

A MIS COMPAÑEROS EN EL LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL BANCO CENTRAL DE SANGRE DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL S. XXI. MARISELA, JACOBO, RUTH, LILI.

A MIS COMPAÑEROS DEL HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO, QUE PREFIERO NO NOMBRAR POR TEMOR A OLVIDAR A ALGUIEN, GRACIAS POR SU INTERÉS EN LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO.

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

SI LE DAS UN PESCADO A UN HOMBRE CON HAMBRE, AL TERMINARSELO NO TENDRÁ QUE COMER; SI LO ENSEÑAS A PESCAR NUNCA TENDRÁ HAMBRE.

A:

Q.F.B. JOSÉ LUIS ALCARÁZ LÓPEZ

Q.F.B. YOLANDA FLORES CABRERA

GRACIAS, POR SUS ENSEÑANZAS, APOYO, COMPRENSIÓN Y POR SU AMISTAD, POR PERMITIRME Y AYUDARME A ALCANZAR ESTE OBJETIVO, QUE A VECES PARECIA MÁS LEJANO.

ÍNDICE

| TEMA | PÁGINA | |
|----------|--|----|
| 1.- | RESUMEN | 1 |
| 2.- | INTRODUCCIÓN | 1 |
| 3.- | MARCO TEÓRICO | 2 |
| 3,1 | Antecedentes Históricos | 2 |
| 3,2 | Tipo de respuesta: natural y adaptativa | 4 |
| 3,3 | Clasificación de las anemias adquiridas inmunes | 5 |
| 3.3.1 | Autoinmunes | 5 |
| 3.3.2 | Alloinmunes | 5 |
| 3,4 | Reacción hemolítica: intravascular y extravascular | 5 |
| 3,5 | Tipo de Anticuerpo e Importancia Clínica | 6 |
| 3,6 | Sintomatología, Diagnóstico y Tratamiento de AHAI | 6 |
| 3,7 | Diferentes Patologías Asociadas con AHAI | 8 |
| 3.7.1 | Con base a características serológicas | 9 |
| 3.7.1.1 | Anticuerpos calientes | 9 |
| 3.7.1.2 | Anticuerpos fríos | 9 |
| 3.7.1.3 | Mezcla de anticuerpos fríos y calientes | 9 |
| 3.7.2 | Con base a la presencia o ausencia fundamental y/o significativa asociada a un desorden | 9 |
| 3.7.2.1 | Primaria o Idiopática | 9 |
| 3.7.2.1 | AHAI Secundaria | 9 |
| 3,8 | Sistemas de grupos sanguíneos | 10 |
| 3.8.1 | Sistema ABO (001) | 10 |
| 3.8.1.1 | Historia | 10 |
| 3.8.1.2 | Frecuencia establecida de los fenotipos en la población mestizo-mexicana y raza blanca del sistema ABO | 11 |
| 3.8.1.3 | Estructura bioquímica fundamental del sistema ABO | 11 |
| 3.8.1.4 | Datos genéticos | 12 |
| 3.8.2 | Sistema Rh /Hr (004) | 12 |
| 3.8.2.1 | El antígeno D y su contexto histórico | 12 |
| 3.8.2.1 | Significado clínico | 13 |
| 3.8.2.3 | Otros antígenos importantes | 13 |
| 3.8.2.4 | Consideraciones genéticas y bioquímicas | 15 |
| 3.8.2.5 | Genes Rh | 15 |
| 3.8.2.6 | Observaciones bioquímicas y estructurales | 15 |
| 3.8.2.7 | Terminología Rh | 16 |
| 3.8.2.8 | Notación del sistema | 16 |
| 3.8.2.9 | Notación de los haplotipos | 17 |
| 3.8.2.10 | Determinación del fenotipo | 17 |
| 3.8.2.11 | Expresión de D | 17 |
| 3.8.2.12 | Anticuerpo Rh en el suero del paciente | 18 |
| 3.8.3 | Sistema M N S s (002) | 18 |

| TEMA | PÁGINA | |
|---------|---|----|
| 3.8.3.1 | Frecuencia de los fenotipos | 18 |
| 3.8.3.2 | Antígenos de alta incidencia | 18 |
| 3.8.3.3 | Antígenos de baja incidencia | 19 |
| 3.8.3.4 | Datos serológicos | 19 |
| 3.8.3.5 | Datos clínicos | 19 |
| 3.8.3.6 | EHRN | 20 |
| 3.8.3.7 | Datos bioquímicos | 20 |
| 3.8.4 | Sistema P (003) | 20 |
| 3.8.4.1 | Historia | 21 |
| 3.8.4.2 | Antígenos del sistema | 21 |
| 3.8.4.3 | Frecuencia establecida entre los fenotipos de la población mexicana y raza blanca | 21 |
| 3.8.4.4 | Antígenos de alta y baja incidencia | 21 |
| 3.8.4.5 | Datos serológicos | 21 |
| 3.8.4.6 | Datos clínicos | 22 |
| 3.8.4.7 | EHRN | 22 |
| 3.8.4.8 | Datos bioquímicos y genéticos | 22 |
| 3.8.5 | Sistema Kell (006) | 23 |
| 3.8.5.1 | Historia | 23 |
| 3.8.5.2 | Antígenos del sistema | 24 |
| 3.8.5.3 | Fenotipos comunes | 24 |
| 3.8.5.4 | Antígenos de alta incidencia | 25 |
| 3.8.5.5 | Antígenos de baja incidencia | 25 |
| 3.8.5.6 | Datos serológicos | 26 |
| 3.8.5.7 | Datos clínicos | 26 |
| 3.8.5.8 | EHRN | 26 |
| 3.8.5.9 | Datos bioquímicos y genéticos | 26 |
| 3.8.6 | Sistema Lewis (007) | 26 |
| 3.8.6.1 | Historia | 26 |
| 3.8.6.2 | Antígenos | 27 |
| 3.8.6.3 | Antígenos de alta incidencia | 27 |
| 3.8.6.4 | Antígenos de baja incidencia | 27 |
| 3.8.6.5 | Le (LEWIS) y Se (Secretor) | 27 |
| 3.8.6.6 | Datos serológicos | 28 |
| 3.8.6.7 | Datos clínicos | 28 |
| 3.8.6.8 | EHRN | 28 |
| 3.8.6.9 | Datos bioquímicos | 28 |
| 3.8.7 | Sistema Dyffy (008) | 29 |
| 3.7.7.1 | Historia | 29 |
| 3.7.7.2 | Antígenos | 29 |
| 3.7.7.3 | Frecuencia de fenotipos | 30 |
| 3.7.7.4 | Antígenos de baja incidencia | 30 |
| 3.7.7.5 | Antígenos inusuales | 30 |
| 3.7.7.6 | Datos serologicos | 30 |
| 3.7.7.7 | Datos clínicos | 30 |
| 3.7.7.8 | EHRN | 31 |
| 3.7.7.9 | Datos bioquímicos y genéticos | 31 |
| 3.8.8 | Sistema Kidd (009) | 31 |

| | | |
|----------|---|----|
| 3.8.8.1 | Historia | 31 |
| 3.8.8.2 | Antígenos | 31 |
| 3.8.8.3 | Antígenos de alta incidencia | 31 |
| 3.8.8.4 | Antígenos de baja incidencia | 32 |
| 3.8.8.5 | Datos serológicos | 32 |
| 3.8.8.6 | Datos clínicos | 32 |
| 3.8.8.7 | EHRN | 33 |
| 3.8.8.8 | Datos bioquímicos y genéticos | 33 |
| 3.8.9 | Sistema Diego (010) | 33 |
| 3.8.9.1 | Historia | 33 |
| 3.8.9.2 | Frecuencia de antígenos | 34 |
| 3.8.9.3 | Antígenos de alta y baja incidencia | 34 |
| 3.8.9.4 | Datos serológicos | 34 |
| 3.8.9.5 | Datos clínicos | 35 |
| 3.8.9.6 | EHRN | 35 |
| 3.8.9.7 | Datos bioquímicos | 35 |
| 3.8.10 | Colección I i | 36 |
| 3.8.10.1 | Historia | 36 |
| 3.8.10.2 | Asociación con enfermedad | 36 |
| 3.8.10.3 | Incidencia de los antígenos (Adultos) | 38 |
| 3.8.10.4 | Datos serológicos | 38 |
| 3.8.10.5 | Datos clínicos | 38 |
| 3.8.10.6 | Datos bioquímicos | 39 |
| 3,9 | La frecuencia y especificidad de los anticuerpos reportada por Linares de 90 casos | 39 |
| 4.- | PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 41 |
| 5.- | OBJETIVOS | 41 |
| 6.- | HIPOTESIS | 41 |
| 7.- | DISEÑO EXPERIMENTAL | 41 |
| 7,1 | Tipo de estudio | 41 |
| 7,2 | Población de estudio | 41 |
| 7,3 | Criterios de inclusión, exclusión y eliminación | 41 |
| 7.4.1 | Dependientes | 41 |
| 7.4.2 | Independientes | 41 |
| 7,5 | Materiales | 42 |
| 7.5.1 | Material de vidrio | 42 |
| 7.5.2 | Equipo | 42 |
| 7.5.3 | Reactivos | 42 |
| 7.5.4 | Material de apoyo | 43 |
| 7,6 | Diagrama general | 44 |
| 7,7 | Métodos | 45 |
| 7.7.1 | Determinación del grupo sanguíneo | 45 |
| 7.7.1.1 | Directo | 46 |
| 7.7.1.2 | Inverso | 46 |
| 7.7.2 | Prueba de Antiglobulina humana (Coombs) | 47 |
| 7.7.2.1 | Antisueros específicos Ig G, C3, C4 | 48 |
| 7.7.2.2 | Coombs Directo:negativo | 48 |
| 7.7.3 | Búsqueda de anticuerpos irregulares | 48 |
| 7.7.3.1 | Técnica salina | 49 |

| | | |
|----------------|--|----|
| 7.7.3.2 | Técnica con albúmina | 49 |
| 7.7.3.3 | Técnicas enzimáticas | 50 |
| 7.7.3.4 | Técnica con bromelina (una fase) | 50 |
| 7.7.3.5 | Técnica con bromelina (en dos fases) | 50 |
| 7.7.3.6 | Técnica con LISS | 51 |
| 7.7.3.7 | Determinación del fenotipo | 52 |
| 7.7.3.8 | Realización del eluído (Tricloroetileno-cloroformo) | 52 |
| 7.7.4 | Diseño estadístico | 54 |
| 7.7.4.1 | Análisis estadístico | 54 |
| 8.- | Resultados | 55 |
| 8,1 | Frecuencia en pacientes por grupo de edad | 55 |
| 8,2 | Coombs Directo: En pacientes con AHAI | 56 |
| 8,3 | Clase de inmunoglobulina detectada | 57 |
| 8,4 | Frecuencia contra especificidad de autoanticuerpos libres | 58 |
| 8.4.1 | Frecuencia contra especificidad de autoanticuerpos libres (de acuerdo al sexo) | 59 |
| 8,5 | Frecuencia en pacientes con autoanticuerpos (AHAI) más aloanticuerpos libres en suero | 60 |
| 8.5.1 | Frecuencia en pacientes por sexo, con autoanticuerpos (AHAI) más aloanticuerpos libres en suero | 61 |
| 8,6 | Anticuerpos en pacientes con AHAI (Anticuerpos despegados) | |
| 8.6.1 | Anticuerpos en pacientes con anemia hemolítica (Anticuerpos despegados de acuerdo al sexo) | 63 |
| 8,7 | Frecuencia de aloanticuerpos agrupados en sistemas presentes en la población mestizo-mexicana | 64 |
| 8.7.1 | Frecuencia en pacientes estudiados con aloanticuerpos solos | 65 |
| 8.7.2 | Frecuencia en pacientes estudiados con mezclas de aloanticuerpos | 66 |
| 9.- | ANÁLISIS DE RESULTADOS | 67 |
| 10.- | CONCLUSIONES | 70 |
| 11.- | GLOSARIO | 71 |
| 12.- | REFERENCIAS | |

1.-RESUMEN:

En el presente estudio se determinaron las frecuencias de anticuerpos antieritrocitarios más comunes en Anemia Hemolítica Autoinmune (AHAI), autoanticuerpos y aloanticuerpos en los pacientes recibidos en el Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional Siglo XXI (BCS del CMN S. XXI). Determinación del coombs directo (CD), y Coombs específico (Ig G y C3d) rastreo de anticuerpos por técnica salina, albúmina, enzimática y LISS. Fenotipo, antígenos específicos y si fué necesario tratamiento con glicina pH ácido, eluído y titulación de anticuerpos para interpretar todo el estudio.

Los casos encontrados de AHAI y aloanticuerpos en mujeres 68.5 %, hombres 31.5 %. Pacientes con AHAI mujeres 63 %, hombres 37 %. Mayor frecuencia por edad y sexo 30-49 años mujeres 31 %, hombres 13 %. Autoanticuerpos libres: anti-Ii 50.5 %, antisistema Rh/Hr 16 %, otros 33.5 %. Clase de inmunoglobulinas Ig G +C3d 44%, Ig G 32 % y C3d 8% y no demostrable 16 %. Anticuerpo despegado antisistema Rh/Hr 63 %, antisistema Rh/Hr+anti-I 8 %, otros sistemas 19 %, anticuerpo no demostrable 10 %. AHAI con aloanticuerpos: Sistema Rh/Hr 33.5 %, Duffy 22.5 %, Kidd 16.5 %, Diego 11 %, de otros sistemas 16.5 %. Aloanticuerpos: Mujeres 71 %, hombres 29 %. Anticuerpos por sistemas: Rh/Hr 40 %, Kell 17 %, Duffy 12 %, Diego 9 %, Kidd 8 %, de otros sistemas 14 %.

2.-INTRODUCCIÓN

Los grupos sanguíneos son marcadores antropológicos ampliamente estudiados en el ámbito mundial. La frecuencia de los diferentes antígenos es reflejo de la mezcla génica. Debido al avance en la mezcla poblacional, que se rige por diferentes factores sociales, culturales, religiosos o económicos, es una buena práctica el determinar los anticuerpos eritrocitarios más comunes y establecer la frecuencia de cada población.¹

Se determinará la frecuencia de autoanticuerpos y/o aloanticuerpos en pacientes que cumplen con al menos uno de los criterios de inclusión que son atendidos en el BCS del CMN S. XXI de México D.F. En un período de Enero del 2002 hasta Junio del 2004. Ya que dicha unidad no cuenta con un registro de esta naturaleza de su población mestizo-mexicana. La determinación de anticuerpos antieritrocitos en anemia hemolítica inmune de manera oportuna y acertada favorece el tratamiento adecuado del paciente. Las muestras sanguíneas necesarias serán las mismas que toman rutinariamente para los estudios de compatibilidad pretransfusional más una muestra con anticoagulante para Coombs directo ya que los estudios relacionados con este protocolo son obligatorios como parte de las pruebas para transfundir sangre compatible y los sueros no clasificados en el laboratorio de inmunohematología del BCS CMN S. XXI. Además del rastreo de anticuerpos por técnica salina, enzimática, con albúmina y LISS. Determinación de antígenos específico si el CD es positivo así como su tratamiento respectivo con Glicina a pH ácido; realizar el fenotipo del paciente cuando el CD da negativo y posteriormente el eluído y poder interpretar todo el estudio.

3.-MARCO TEÓRICO:

3.1 Antecedentes históricos.

| AÑO | CIENTÍFICO | APORTACIÓN |
|-----------|----------------------|---|
| 1875 | Landois | Descubrió que si se mezclaban eritrocitos de un animal, por ejemplo, de cordero, con suero de otro animal (perro) y se incubaban 37° C, se producía la lisis en unos 2 minutos. ² |
| 1900-1901 | Landsteiner | Simplemente dejó interaccionar suero y eritrocitos de distintos individuos humanos. Descubrió el sistema de grupos sanguíneos ABO. ² |
| 1908 | Moreschi | Describió el principio de la prueba de antiglobulina humana posteriormente llamada prueba de Coombs y demostró que al incubar eritrocitos de conejo con una dosis de suero de cabra anticonejo demasiado reducida para producir aglutinación, y lavarlos seguidamente, éstos eran aglutinados intensamente por suero de conejo anticabra. ² |
| 1926 | Landsteiner y Witt | Sólo lograron encontrar aglutininas débiles activas a bajas temperaturas. ² |
| 1927 | Landsteiner y Levine | Consiguieron descubrir otros antígenos inyectando muestras distintas de eritrocitos humanos a conejos. De esta forma obtuvieron anticuerpos que identificaban tres antígenos humanos nuevos M, N, y P. ² |
| 1939 | H.R. Peters | Del Johns Hopkins Hospital, envió a Wiener muestras de sangre de tres pacientes que habían sufrido reacciones transfusionales graves; con el suero de conejo anti-Rhesus que existía en el laboratorio de Landsteiner se vio que todos los pacientes eran Rh negativos, y todos los donantes eran Rh positivos; además en el plasma de los pacientes se encontraron hemaglutininas de la misma especificidad que el suero de conejo anti-Rhesus, y entonces Landsteiner aceptó publicar los resultados de las determinaciones de tipos de sangre humana con suero animales anti- Rhesus. ² |
| 1939 | Levine y Stetson | Encontraron un anticuerpo (que posteriormente se demostró que era anti -Rh) en el suero de una mujer que acababa de parir un feto muerto in útero. ² |
| 1940-1941 | Landsteiner y Wiener | Se encontraron anticuerpos que demostraron el polimorfismo Rh en el hombre, inyectaron eritrocitos de monos Rhesus a conejos y cobayos, y enfretaron el suero resultante con eritrocitos humanos. ² |
| 1945 | Coombs y cols. | "Redescubrieron"e introdujeron en la práctica clínica la prueba de la antiglobulina. ² |

3.-MARCO TEÓRICO:

3.1 Antecedentes históricos.

| AÑO | CIENTÍFICO | APORTACIÓN |
|------|----------------|--|
| 1945 | ----- | Se introdujo el uso de la albúmina. ² |
| 1946 | Pickles | Descubrió por primera vez el uso de las enzimas en la serología de grupo sanguíneas. Algunas enzimas proteolíticas, como la ficina, la papaína y la Bromelina, potencian las reacciones serológicas, particularmente las de los anticuerpos de los sistemas ABO, li, Rh/Hr y Kidd, y destruyen antígenos como los M, N, Fya, Fyb, algunos S y s. ⁶ |
| 1960 | Jenkins y cols | Demostraron los principales componentes del complemento detectados eran C4 |
| 1962 | Polley y cols. | Unos pocos anticuerpos Ig M no aglutinan a 22 °C; por ejemplo, los anticuerpos Lewis, a 37 °C suelen ser incapaces de aglutinar eritrocitos, pero se descubren con la prueba directa de la antiglobulina mediante un anti-Ig M, aunque se detecta mejor usando suero anticomplemento. ² |
| 1963 | Harboe y cols | C3, ² |
| 1974 | Low y Messeter | Describieron el uso en las pruebas rutinarias de detección de anticuerpos y de compatibilidad de una solución de baja fuerza iónica (LISS) 0.03 M que prácticamente no daba resultados falso-positivos. Las soluciones de baja fuerza iónica aumenta la velocidad de asociación entre los anticuerpos de grupo sanguíneo y los antígenos correspondientes, permitiendo acortar el tiempo de incubación de la prueba sin sacrificar su sensibilidad. ⁷ |

En los últimos años también se ha introducido las columnas de gel para la detección de anticuerpos antieritrocitos.

Estas además se usan en pacientes con AHAI, frecuentemente por que detectan autoanticuerpos “en silencio” (Coombs negativo) en anemia hemolítica.^{8,9,10} Se puede trabajar con dos tipos de columna:

-Por gradiente de peso { Funcionan porque la unión de varios eritrocitos sensibilizados por el anticuerpo se aglutinan por la acción de la Ig G anti humana del suero de Coombs y no pasan por la barrera de gel formándose una banda de eritrocitos en la parte superior, será entonces la prueba positiva; y cuando los eritrocitos quedan en el fondo de la columna será negativa^{10,11}
Se emplean en el trabajo rutinario.

+

-Por intercambio de cargas { En el caso de las columnas por afinidad, el gel está formando por proteína de ***Staphylococcus aureus*** y de ***Streptococcus*** grupo G obtenidas por ADN recombinante. Las dos proteínas se fijan específicamente a la porción Fc de la molécula de Ig G unida al eritrocito sensibilizado in vitro o in vivo, dando en ese caso bandas positivas en la parte superior del gel y la prueba será negativa cuando los eritrocitos van al fondo de la columna.^{10,11}
Actualmente sólo se emplea en investigación.

3.2 Tipo de respuesta: natural y adaptativa

Los anticuerpos antieritrocitos son inmunoglobulinas producidas por el sistema inmune en respuesta a la presencia de antígenos eritrocitarios que son reconocidos como extraños.

Después de una primera exposición a un antígeno extraño se produce una moderada y lenta producción de anticuerpos, fenómeno conocido como respuesta primaria (innata, natural ó nativa), dicha exposición está constituida por mecanismos existentes antes que se desarrolle, la respuesta capaz de establecer respuestas rápidas a los microorganismos y que los anticuerpos reaccionan básicamente de la misma manera a infecciones repetidas. La respuesta secundaria (adaptativa) que se presenta después de una segunda exposición, se caracteriza por una rápida producción de cantidades importantes de anticuerpos, cuyo título comenzará a ascender a las 48 horas después de estar en contacto con el antígeno (transfusión) y alcanza su pico a los seis días, tiene una especificidad extraordinaria para macromoléculas diferentes y su capacidad para recordar y responder con mayor intensidad tras exposiciones repetidas al mismo estímulo. Debido a esta capacidad de discriminación entre macromoléculas y microorganismos se denomina también inmunidad específica. Los componentes de la inmunidad específica son los linfocitos y sus productos. Las sustancias extrañas que inducen respuestas inmunitarias específicas se denominan antígenos. En la respuesta primaria se suelen producir inicialmente anticuerpos de naturaleza Ig M, y después se pasa a la formación de anticuerpos Ig G.^{12, 13, 14}

Los eritrocitos sobreviven en la circulación, bajo condiciones normales alrededor de 100 a 120 días. Diariamente el 1% de esta masa roja es destruida y reemplazada por nuevas células provenientes de la médula ósea. Un estado hemolítico se presenta cuando la sobrevivida in vivo de los eritrocitos es disminuida. Se establece el diagnóstico de anemia hemolítica cuando se demuestra que el acortamiento de la vida eritrocitaria es el mecanismo relevante.^{12, 13, 14}

3.3 Clasificación de las anemias hemolíticas adquiridas de tipo inmune

Las anemias hemolíticas pueden ser causadas por defectos hereditarios o por anomalías adquiridas. Las de tipo hereditario generalmente son el resultado de anomalías presentes en el contenido intracelular del eritrocito o anomalías estructurales de la membrana. Las formas adquiridas, como su nombre lo indica, incluyen todas las demás anemias hemolíticas en donde no se ha podido demostrar su origen hereditario^{12, 13, 15}

Clasificación de las anemias hemolíticas adquiridas inmunes^{13, 15}

| TIPO DE ANEMIA | CAUSA |
|---------------------------|---|
| 3.3.1 Autoinmunes: | -Por anticuerpos calientes -Síndrome de aglutininas frías -Hemoglobinuria paroxística a frío -Por medicamentos (Alfa metil dopa) |
| 3.3.2 Aloinmunes: | -Enfermedad hemolítica del recién nacido -Reacción hemolítica post transfusión |

3.4 Reacción hemolítica: Intravascular y extravascular

La reacción hemolítica es aquella que causa la destrucción del glóbulo rojo debido a una reacción antígeno-anticuerpo in vivo. Dependiendo del tipo de anticuerpo involucrado, de los sitios antigénicos y de la activación del complemento, la destrucción puede suceder en torrente circulatorio (intravascular), o en el sistema reticuloendotelial (extravascular).

Hemólisis intravascular: Es una reacción aguda con sintomatología que se presenta minutos después del inicio de la transfusión, sucede en torrente circulatorio. La destrucción de glóbulos rojos transfundidos debido a una reacción antígeno-anticuerpo con la activación de complemento hasta C9. Anticuerpos implicados: Anti AB, Anti-Fy_a, Anti-Fy_b, Anti-Jk_a, Anti-Jk_b, Anti-Le_a (raro), Anti-Tj_a.

Hemólisis extravascular: Este tipo de reacción se debe a una respuesta inmunológica tardía, se caracteriza por la unión del anticuerpo presente en el plasma del paciente con los antígenos del eritrocito transfundido, este complejo antígeno anticuerpo es removido de la circulación por el sistema retículo endotelial.¹⁶

3.5 Tipo de anticuerpo e importancia clínica

Un anticuerpo es clínicamente significativo si ha sido asociado a EHRN, en RT, o si la supervivencia de los eritrocitos transfundidos disminuye. Los anticuerpos con significancia clínica generalmente se encuentran en pacientes que han recibido estímulos con eritrocitos incompatibles como en el caso de los pacientes politransfundidos o mujeres multigestas y se les denomina aloanticuerpos.^{15, 17, 18, 19} Estos anticuerpos son activos a 37° C (anticuerpos calientes) y se manifiestan de manera muy importante.

Los anticuerpos que reaccionan a 22° C o por debajo de esta temperatura (aglutininas frías) no siempre son clínicamente significativos¹⁵

En el síndrome de la Hemoglobinuria paroxística a frigore, el suero del paciente contiene un anticuerpo frío fijador de complemento. Este anticuerpo, denominado con frecuencia anticuerpo de Donath-Landsteiner, por el nombre de sus descubridores, produce hemólisis tanto in vitro como in vivo cuando la sangre es refrigerada (para facilitar la fijación del complemento) y luego se mantiene a temperatura corporal (37 °C) para mejorar las condiciones de la hemólisis propiciada por complemento. Debido a esta conducta, el anticuerpo se define en algunas ocasiones como una "hemolisina bifásica".²

3.6 Sintomatología, diagnóstico y tratamiento de AHAI

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha definido unos límites de referencia para la concentración de hemoglobina en sangre, de forma que se considera anemia cuando su valor se halla por debajo del límite inferior correspondiente.²⁰

Límites de normalidad (x +/- 2DE) de la concentración de hemoglobina, hematocrito y recuento de eritrocitos²⁰

| POBLACIÓN | HEMOGLOBINA (G/L) X +/- 2DE (G/L) INFERIOR | LÍMITE | HEMATÓCRITO (L/L) | ERITROCITOS (POR 10 ¹² /L) |
|----------------------------|---|--------|----------------------|---|
| Recién nacidos (a término) | 160 +/-30 | 140 | 0,54 +/-0,10 | 5,6 +/-1,0 |
| Niños de 3 meses | 150 +/-20 | 95 | 0,38 +/-0,06 | 4,0 +/-0,8 |
| Niños de 1 año | 120 +/-10 | 110 | 0,40 +/-0,04 | 4,4 +/-0,8 |
| Niños entre 1 y 12 años | 130 +/-10 | 120 | 0,40 +/-0,04 | 4,8 +/-0,7 |
| Mujeres (no embarazadas) | 140 +/-20 | 120 | 0,40 +/- 0,05 | 4,8 +/-1,0 |
| Varones | 150 +/-20 | 130 | 0,50 +/- 0,07 | 5,5 +/-1,0 |

En la siguiente gráfica se representan los valores de hemoglobina y hematocrito a varias altitudes en la República Mexicana³²

| ALTITUD | SEXO | MEDIA | DES | MEDIA | DES |
|---------------|------|-------|-------|-------------|-------------|
| | | Hb/dL | Hb/dL | Hematocrito | Hematocrito |
| NIVEL DEL MAR | F | 14.1 | 1.12 | 43.9 | 3.17 |
| NIVEL DEL MAR | M | 16 | 1.18 | 49.3 | 3.44 |
| 1000 m | F | 13.8 | 0.95 | 42.4 | 2.52 |
| 1000 m | M | 15.8 | 0.92 | 48.1 | 2.54 |
| 1860 m | F | 14.5 | 0.88 | 45 | 2.94 |
| 1860 m | M | 16.8 | 1.08 | 51.3 | 3.11 |
| 2220 m | F | 14.6 | 0.98 | 44.6 | 2.69 |
| 2220 m | M | 17.4 | 0.92 | 51.5 | 2.59 |
| 2670 m | F | 15.3 | 1.1 | 46.9 | 3.11 |
| 2670 m | M | 17.6 | 1.18 | 43 | 3.26 |

El diagnóstico de una anemia hemolítica constituye muchas veces una tarea ardua y difícil; una de las características más destacadas de la AHAI es la variedad de su comportamiento clínico ya que, junto a formas agudas, generalmente graves, pueden observarse formas crónicas, insidiosas y muchas veces, difíciles de diagnosticar. En general, el cuadro clínico de una AHAI se caracteriza por un síndrome hemolítico (agudo o crónico) cuya intensidad y evolución depende de la naturaleza del autoanticuerpo implicado y de su concentración en el plasma. Aunque la esplenomegalia es un hallazgo relativamente frecuente en este tipo de anemia hemolítica, debe señalarse su frecuente asociación a hepatomegalia, lo que puede ser un dato clínico útil para diferenciarla de otras anemias hemolíticas en las que solo se observa esplenomegalia.

La presencia de adenopatías en el curso de una AHAI constituye un signo eventualmente orientador sobre el posible origen del proceso: infeccioso (viral) o tumoral (linfoma).

En la práctica pueden considerarse tres formas clínicas de AHAI:

- a) AHAI común (por anticuerpos calientes)
- b) Enfermedad de las crioaglutininas (por anticuerpos fríos)
- c) Hemoglobinuria paroxística a frigore (por hemolisina bifásica)

Las manifestaciones clínicas de la anemia (síndrome anémico) son consecuencia de la respuesta en marcha de diversos mecanismos de adaptación frente al descenso de la oxigenación de los tejidos (hipoxia) y dependen, principalmente, de la edad del paciente, y del estado del sistema cardiovascular. En el sistema hematopoyético se produce un estímulo de la eritropoyesis, lo que permite un mejor aprovechamiento de la escasa hemoglobina disponible. El sistema cardiocirculatorio responde, en primer lugar, mediante una vasoconstricción generalizada (preferentemente en piel, riñón y área esplénica) con aumento del débito cardíaco y, posteriormente, con la redistribución del volumen plasmático.²¹

Cuando los eritrocitos recubiertos por anticuerpos calientes y complemento atraviesan por órganos como el hígado y el bazo, los macrófagos se adhieren a ellos a través de sus receptores para Fc y C3; los eritrocitos pueden ser fagocitados o bien perder extensas áreas de membrana, lo que lleva a la formación de esferocitos, que en general son tan abundantes que debe establecerse el diagnóstico diferencial con esferocitosis hereditaria. Se encuentran esferocitos, con basofilia difusa, que son reticulocitos liberados en condiciones de "estrés" eritropoyético. Para establecer el diagnóstico de anemia hemolítica por anticuerpos calientes, deben detectarse dichos anticuerpos en la superficie de los eritrocitos por medio de una prueba de Coombs directa anti-Ig G que es positiva de manera aislada en el 70% de los casos. En un 20% adicional de los casos la PAD anti-C3 es simultáneamente positiva con la anterior. Un 10% de los casos muestran sólo positividad con anti-C3. La prueba de Coombs debe realizarse en aquellos casos de anemias hemolíticas adquiridas en las que no sea obvia la causa de la hemólisis, sobre todos en el frote de sangre periférica se encuentran esferocitos^{21, 22, 23}

Se han realizado intentos por inhibir la destrucción de eritrocitos incompatibles mediante el siguiente tratamiento: Acción de corticoesteroides.

La administración de corticoesteroides en la AHAI reduce la destrucción eritrocitarias al cabo de pocos días de iniciado el tratamiento. Se cree que esto se debe a dos tipos de acciones:

-Interferencia del funcionamiento del sistema reticuloendotelial (Bilbey y Nicol 1958).

-Reducción de la cantidad de anticuerpo que se combina con el antígeno (Rosse 1971).

Greedyke y cols. (1965) demostraron en el hombre el efecto de los corticoesteroides sobre la eritrofagocitosis. Tras administrar una dosis de 80 mg. de prednisona por vía oral, la eritrofagocitosis, medida mediante una prueba con eritrocitos A recubiertos con anti-A, descendió desde el 83 al 21 % en 2 h. Este efecto se prolongó durante cerca de 4 h. Al añadir glucocorticoides directamente a los eritrocitos recubiertos de anticuerpo y a los fagocitos in vitro, sólo se obtenía una disminución de la eritrofagocitosis con cantidades demasiado elevadas para ser fisiológicas.²

3.7 Diferentes patologías asociadas con AHAI

Se ha propuesto que la práctica transfusional puede constituir un desencadenante del cuadro hemolítico, sobre un sistema inmunitario previamente anómalo (diferentes patologías), donde consideramos la asociación entre AHAI y síndromes mielodisplásicos, en el contexto de otras enfermedades inmunitarias.²⁴

Se pueden ejemplificar dos partes complementarias en la anemia hemolítica autoinmune:^{24, 25}

PARTES COMPLEMENTARIAS EN LA ANEMIA HEMOLITICA AUTOINMUNE ^{24, 25}

3.7.1 Con base a las características serológicas que involucran procesos autoinmunes

3.7.1.1 Autoanticuerpos Calientes: autoanticuerpos cuya máxima actividad es a temperatura corporal (37° C)

3.7.1.2 Autoanticuerpos fríos: autoanticuerpos fríos activos a temperatura menores a (37° C)

3.7.1.3 Mezcla de anticuerpos fríos y calientes

3.7.2 Con base a la presencia o ausencia fundamental y/o significativa asociada aun desorden.

3.7.2.1 Primaria o idiopatica

3.7.2.2 AHAI secundaria

-Asociado con desordenes linfoproliferativos (ej: Enfermedad Hodking, Linfoma)

-Asociado con desordenes reumáticos particularmente (Lupus Eritomatoso sistémico)

-Asociada con ciertas infecciones (ej: Citomegalovirus).

-Asociada con ciertas neoplasias no linfoides (ej: tumor ovárico)

-Asociada con procesos crónicos inflamatorios (ej: colitis ulcerativa) ^{26, 27}

-Asociado con ingestión de ciertos fármacos (ej: alfa-metildopa)

Es importante mencionar que la ocurrencia de Coombs positivo para AHAI en Enfermedad de Hodking fue reportado como 6 en 219 casos (2.7%), ²⁸ además la infección causada por Citomegalovirus primaria o recurrente ha sido relacionada con AHAI. En adultos, es un raro evento, en la mayoría de los casos reportados se trata de pacientes que han recibido múltiples transfusiones sanguíneas en estos casos el autoanticuerpo detectado es el anti -i. ^{29,30}

3.8 Clasificación y sistemas de grupos sanguíneos.

Existen diferentes clasificaciones de los grupos sanguíneos, algunos con ventajas o desventajas sobre otros; sin embargo, los intentos mejor logrados se han realizado y actualizado en talleres para lograr el consenso internacional al respecto.

Los antígenos de los grupos sanguíneos se clasifican en tres categorías, denominados sistemas, colecciones y series:

Sistemas: corresponde al grupo de antígenos eritrocitarios que comparten ciertas características en común, como la estructura química, los genes involucrados en su codificación, la herencia independiente, la topografía en la membrana, etc.(ej: sistema Rh/Hr). A la fecha se han contabilizado 23 sistemas, de acuerdo con la sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea.¹

Un sistema eritrocitario consiste en dos o más antígenos controlados por un solo locus genético, o por dos o más loci homólogos estrechamente relacionados con escasa o ninguna recombinación entre ellos. Cada sistema es genéticamente diferente de otro sistema.

Colecciones: solo los antígenos eritrocitarios aún no clasificados en el punto anterior, que tienen alguna relación bioquímica, serológica o genética (ej: antígenos li).

Series: corresponden a los antígenos que están pendientes de clasificación (ej: Lewis-c). Estas series pueden tener antígenos de baja incidencia con <1% de prevalencia (series 700) y de alta incidencia con > 99% (series 901).

De igual forma, los antígenos eritrocitarios clasificados dentro de las colecciones poseen una identificación numérica propia. Algunas colecciones de antígenos se han reubicado en su clasificación dentro de los sistemas.

Los antígenos de la serie 700 son aquellos que se observan en menos de 1% de la población. Por el contrario, los antígenos de la serie 901 o de alta incidencia, son aquellos que se presentan en más de 99% de la población. En ambos casos la incidencia poblacional extrema hace que estén relativamente poco asociados a la producción de enfermedad hemolítica o reacción hemolítica postransfusional.¹

Los antígenos eritrocitarios públicos o de alta incidencia son aquellos que se encuentran presentes en los eritrocitos de la mayoría de la población. El desarrollo de anticuerpos dirigidos contra estos antígenos eritrocitarios (anticuerpos públicos), tiene especial importancia tanto diagnóstica por la gran complejidad asociada a su identificación, como terapéutica por los problemas para encontrar sangre compatible en el momento y en la cantidad necesaria. Afortunadamente, la incidencia de aparición de estos anticuerpos es escasa.^{1, 31, 32, 33, 34}

3.8.1 Sistema ABO (001)

3.8.1.1 Historia

El sistema de grupos sanguíneos ABO fue el primero descrito en éste siglo por Karl Landsteiner; probando su propia sangre con la de sus colaboradores descubrió que el suero de algunos individuos aglutinaba los eritrocitos de otros; identificó así los aloantígenos designados A, B y O; el nombre de este último proviene del vocablo alemán ohne que significa sin o ausente de, ya que estos eritrocitos no eran aglutinados por los sueros, por lo que concluyo que no tenían algo que los otros sí poseían. A dos años después Sturli y Von Decastello descubrieron el cuarto grupo designado como AB.

Se ha establecido un gran número de características antigénicas de los eritrocitos. Actualmente se han reportado y definido aproximadamente 600 antígenos diferentes,²⁹ cuya frecuencia varía acorde al grupo étnico que se estudie. Su importancia no solo se ubica en el ámbito clínico basada en que todos los individuos sanos mayores de 3 a 6 meses presentan en forma natural como anticuerpos antitéticos naturales contra los antígenos ABO del tipo Ig M capaces de activar al complemento que se presentan sin estimulación antigénica aparente, sino que también en el ámbito antropológico han sido utilizados como marcadores serológicos en genética de poblaciones.

Históricamente, los grupos étnicos no americanos provienen principalmente de España, cuyos individuos llegaron durante la conquista de México y con frecuencia han continuado arribando a nuestro país. Otros grupos étnicos han sido los individuos de raza negra que fueron traídos como esclavos durante la conquista. Durante la intervención francesa, algunos de los soldados permanecieron en el país.^{32, 33, 34}

3.8.1.2 Frecuencia establecida de los fenotipos en la población mestizo-mexicana y raza blanca, del sistema ABO ^{32, 35}

| FENOTIPO % | O | A1 | A2 | B | A1B | A2B |
|------------------|-------|-------|-----|------|------|------|
| Mestizo-mexicana | 72.02 | 18.85 | 0.9 | 7.01 | 1.13 | 0.09 |
| blancos | 43 | 34 | 10 | 9 | 3 | 1 |

3.8.1.3 Estructura bioquímica fundamental del sistema ABO

Los antígenos de los sistemas de grupos sanguíneos y las características de los anticuerpos correspondientes son una pieza fundamental.

Los azúcares que confieren la especificidad antigénica ABO se denominan inmunodominantes y son los que se muestran a continuación. ³²

| GRUPO SANGUÍNEO | AZÚCAR DOMINANTE |
|-----------------|------------------------|
| A | N-acetil-galactosamina |
| B | Galactosa |
| AB | Ambas |

Los anticuerpos del sistema ABO son de gran importancia clínica; existen en todos los individuos desde el momento en que son capaces de montar una respuesta inmunológica. Los anticuerpos se producen contra los antígenos ABO de los cuales carece el individuo (anticuerpos antitéticos). Son válidos los producidos a partir de cuatro a seis meses de edad, ya que, antes de ese tiempo, los anticuerpos circulantes en los bebés provienen de la madre, pues les han sido transferidos a través de la placenta.

Los anticuerpos anti-AB en realidad son xenoanticuerpos porque su producción obedece al estímulo de estructuras bioquímicas de gran semejanza con los azúcares inmunodominantes humanos con otros ampliamente distribuidos en la naturaleza como los de las bacterias.

Los anticuerpos antitéticos correspondientes del sistema ABO perduran por toda la vida; por ello, se les ha denominado anticuerpos naturales regulares; su significancia clínica radica en que son activos en un amplio rango térmico (de 4 a 37 °C); son una mezcla de Ig G, Ig M e Ig A. Cuando son Ig M, al entrar en contacto con eritrocitos incompatibles, producen hemólisis intravascular por su capacidad de activar complemento hasta C9.

Los individuos de grupo sanguíneo AB no producen anticuerpos antitéticos, puesto que conocen ambos antígenos. Los de grupo O producen un anticuerpo anti-AB que no es la suma de anti-A más anti-B, ya que es capaz de aglutinar tanto células A como B y su actividad no puede ser separada por adsorción diferencial con glóbulos rojos A o B. Este anticuerpo reacciona con mayor intensidad que los anti-A y anti-B provenientes de individuos B y A, respectivamente. ²⁷

Es importante destacar que en la población mexicana se ha observado una gran proporción de grupos O (más de 90 %), con anticuerpos hemolíticos anti-AB en el suero, lo que se evidencia fácilmente su suero se prueba contra una concentración baja de eritrocitos incompatibles suspendidos en solución salina.

3.8.1.4 Datos genéticos

Los genes del sistema ABO, ubicados en el cromosoma número 9, están estrechamente relacionados con los de otros sistemas de grupos sanguíneos como son el Hh, Ii, Lewis, P, ya que, la conformación de las moléculas de carbohidratos de sus determinantes antigénicas (Inmunodominantes) está dada por la interacción entre los productos génicos de estos sistemas (cromosoma 19).

La información genética que tiene cada individuo (genotipo) condiciona la síntesis de enzimas que transfieren a la cadena de carbohidratos el azúcar que le confiere la determinante antigénica específica (inmunodominante).

Así, tenemos inicialmente la fucosiltransferasa, que transforma la sustancia precursora fundamental (con características que se asemejan al neumococo tipo XIV) en sustancia H; a la N-galactosiltransferasa que transforma a la sustancia H en sustancia A y a la galactosiltransferasa que transforma a la sustancia H en B. ³²

3.8.2 Sistema Rh-Hr (004)

El inmodificado término descriptivo “Rh positivo” y “Rh negativo” se refiere a la presencia o ausencia del antígeno D eritrocitario.

3.8.2.1 El Antígeno D y su contexto Histórico

El primer ejemplo humano de anticuerpo contra el antígeno más tarde llamado D fue reportado en 1939 por Levine y Stetson, quienes encontraron este en el suero de una mujer la cual tenía un feto con enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) y quien experimento una reacción hemolítica después de la transfusión de sangre de su esposo.^{32,33} En 1940 Landsteiner y Wiener describen un anticuerpo obtenido por inmunización del conejillo de indias y conejos con los eritrocitos del mono Rhesus; estos eritrocitos aglutinaron en aproximadamente el 85 % de los probados en humanos, y ellos llamaron al correspondiente determinante el factor Rh. En el mismo año, Levine y Katzin encontraron un anticuerpo similar en suero de varias mujeres al dar a luz (y con una mínima cantidad de este suero reacciono con el suero animal anti Rhesus). Además en 1940, Wiener y Peters observaron anticuerpos de la misma especificidad en el suero de personas quienes carecían en sus eritrocitos del determinante y quienes han recibido transfusiones ABO compatibles en el pasado. Más tarde la evidencia establece que el antígeno detectado en animales anti-Rhesus y humanos Anti-D no son idénticos, pero por este tiempo el sistema sanguíneo ya había recibido ese nombre. Posteriormente denominado anti-D fue descubierto, estudios familiarizados muestran que ese antígeno D genéticamente determinado; se trasmite como rasgo autonómico dominante paterno.³³

3.8.2.2 Significado clínico.

Después de los antígenos A y B; D es el antígeno eritrocitario más importante en la práctica transfusional. La formación de anti-D casi siempre resulta de la exposición de pacientes D negativos a mínimas cantidades de sangre D positiva ya sea por embarazo o por transfusión. Quienes reciben una transfusión D positiva son predispuestos a desarrollar anti-D por la gran inmunogenicidad de este antígeno.

Sin embargo, en la mayoría de los estados, a todos los receptores se les realiza la prueba para D y se asegura que los receptores D negativo se les de sangre D negativo.³³

3.8.2.3 Otros antígenos importantes.

A mediados de 1940, cuatro antígenos se identificaron –C, c E y e- han sido reconocidos como pertenecientes al llamado sistema Rh.

Subsecuentes descubrimiento han llevado a nombrar 46 antígenos relacionados con el sistema Rh.

Subsecuentes descubrimientos han llevado a nombrar 46 antígenos relacionados con el Rh. Muchos de los cuales exhiben ambas variaciones cualitativas y cuantitativas. La literatura muestra el conocimiento de la existencia de estos antígenos, pero en muchos casos de medicina transfusional, se reconocen 5 principales antígenos (D, C, E, c, e,) y sus correspondientes anticuerpos que explican más del 99% de consecuencias que implican al sistema Rh.³³

Antígenos del Sistema sanguíneo Rh y sus respectivas incidencias ³³

| DESIGNACIÓN NUMÉRICA | NOMBRE DEL ANTÍGENO | INCIDENCIA % BLANCOS | INCIDENCIA % NEGROS | EN GENERAL |
|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|------------|
| Rh1 | D | 85 | 92 | |
| Rh2 | C | 68 | 27 | |
| Rh3 | E | 29 | 22 | |
| Rh4 | c | 80 | 96 | |
| Rh5 | e | | | 98 |
| Rh6 | f | 65 | 92 | |
| Rh7 | Ce | 68 | 27 | |
| Rh8 | C ^w | 2 | 1 | |
| Rh9 | C ^x | | | <0.01 |
| Rh10 | V | 1 | 30 | |
| Rh11 | E ^w | | | <0.01 |
| Rh12 | G | 84 | 92 | |
| Rh17 | Hro | | | >99.9 |
| Rh18 | Hr | | | >99.9 |
| Rh19 | hr ^s | | | 98 |
| Rh20 | VS | >0.01 | 32 | |
| Rh21 | C ^G | | | 68 |
| Rh22 | CE | | | <1 |
| Rh23 | D ^w | | | <0.01 |
| Rh26 | | 80 | 96 | |
| Rh27 | cE | 28 | 22 | |
| Rh28 | | | | <0.01 |
| Rh29 | Total Rh | | | >99.9 |
| Rh30 | Go ^a | 0 | <0.01 | |
| Rh31 | Hhr ^b | | | 98 |
| Rh32 | <0.01 | 1 | | |
| Rh33 | Har | | | <0.01 |
| Rh34 | Bastiaan | | | >99.9 |
| Rh35 | Rh 35 | | | <0.01 |
| Rh36 | Be ^a | | | <0.1 |
| Rh37 | Evans | | | <0.01 |
| Rh39 | C-like | | | >99.9 |
| Rh40 | Tar | | | <0.01 |
| Rh41 | Ce-like | 70 | | |
| Rh42 | Ce ^s | >0.1 | 2 | |
| Rh43 | Crawford | | | <0.01 |
| Rh44 | Nou | | | >99.9 |
| Rh45 | rIV | Rn46 | | <0.01 |
| Rh46 | | | | >99.9 |
| Rh47 | Dav | | | >99.9 |
| Rh48 | JAL | | | <0.01 |
| Rh49 | STEM | >0.01 | 6 | |
| Rh50 | FPTT | | | <0.01 |
| Rh51 | MAR | | | |
| Rh52 | BARC | | | <0.01 |
| Rh53 | JAHK | | | <0.01 |

3.8.2.4 Consideraciones Genéticas y Bioquímicas.

Se tratará de explicar la genética del control de expresión del antígeno Rh que ha sido rodeado por controversia.

Wiener propuso un simple locus con múltiples alelos determinados moléculas que en la superficie proporcionan numerosos antígenos. Fisher y Race hablaron de la existencia de antígenos antitéticos de alelos recíprocos y 3 individuales pero estrechamente unidos al loci estructuralmente en el cromosoma 1 que determina la producción de antígenos Rh han sido mostrados de manera correcta.³³

3.8.2.5 Genes Rh.

Dos genes altamente homólogos del brazo corto del cromosoma 1 codifican los polipéptidos no glucosilados que expresan la actividad antigénica Rh. El denominado RHD determina la presencia de una proteína que se extiende en la membrana y confiere actividad D al eritrocito, Los individuos D positivo poseen uno de los ejemplares de este gen. Las personas D negativas no tienen material genético en este sitio; la ausencia de un alelo antitético explica porque luego de décadas de búsqueda, los investigadores de la serología nunca hallaron un antígeno d.

En el locus adyacente, el gen RHCE determina los antígenos C, c, E y e; sus alelos son RHCE, RHcE, RHcE y RHce. Se ha invertido muchos esfuerzos en determinar si diferentes proteínas, productos de desdoblamiento alternativo del mRNA, portan C/c y E/e o si un sólo polipéptido expresa ambos sitios. La evidencia reciente proveniente de estudios de transfección sugiere que tanto C/c como E/e residen en un solo producto polipéptido.³³

3.8.2.6 Observaciones bioquímicas y estructurales.

Los productos de RHD y RHCE son proteínas de 416 aminoácidos que según indican estudios en modelos atraviesan la membrana eritrocitaria 12 veces y muestran sólo cortos rizos exofaciales de aminoácidos en el exterior. Los polipéptidos son ácidos grasos acilados y a diferencia de la mayor parte de las proteínas asociadas con los grupos sanguíneos, no portan residuos de carbohidratos. Dentro de la membrana eritrocitaria, los polipéptidos Rh forman complejos de glucoproteínas que tienen homología parcial con los polipéptidos Rh pero están codificados en un locus del cromosoma 6.

Existe considerable homología entre los productos de RHD y RHCE los productos de los diferentes alelos de RHCE son aun más similares. C y c difieren entre sí en los cuatro aminoácidos en las posiciones 16, 60, 68 y 103, de los cuales solo la diferencia entre prolina y serina en 103 parece ser decisiva. La presencia de prolina o alanina en la posición 226 parece ser la única característica que distingue E de e. El polipéptido D., por el contrario posee 36 aminoácidos que serán identificados como extraños por los individuos D negativos.

El estudio de los eritrocitos Rh nulo, a los que les falta por completo los antígenos Rh son parte de un gran complejo de membrana, en el cual la presencia de las proteínas Rh parece ser esencial para la expresión correcta o la presentación de otros constituyentes. Las glucoproteínas que portan los antígenos LW, Duffy y U parece requerir la presencia de proteínas Rh para su expresión completa. A las células Rh nulo les faltan todos los antígenos LW, son negativas para Fy5 del sistema Duffy y tienen una expresión debilitada de los antígenos portados en la glicoforina B (S, s y U).³³

3.8.2.7 Terminología Rh

Tres sistemas de nomenclatura fueron desarrollados antes de los recientes avances dentro de la genética del Rh. Cada uno de esos sistemas de nomenclatura ha sido usado para transmitir información genética y serológica acerca del sistema Rh.³³

3.8.2.8 Notación del sistema

La terminología Rh-Hr deriva de los trabajos de Wiener, quien creyó que el producto inmediato génico era una sola entidad el lo llamo aglutinogeno. Un aglutinogeno fue caracterizado por numerosas especificidades individuales, llamados factores, estos fueron identificados por anticuerpos específicos. Actualmente los datos bioquímicos y serologicos no soportan esta teoría.

La terminología CDE fue introducida por Fisher y Race, quienes postularon tres partes de un gen cercanas en los cuales había conexión (C y c, D y d, y E y e).

Ambos, (producto y el gen) tienen la misma letra designada, con letras itálicas para nombrar al gen. Si bien esta teoría no explica detalladamente lo observado en el perfil del antígeno Rh, una modificación de la terminología DCE es ahora común usada para comunicar muchos de los trabajos emplean sistema de abreviación basada en el trabajo de notación de Wiener sobre el sistema Rh-Hr.

Rosenfield y colaboradores propusieron un sistema de nomenclatura basado en observaciones serológicas símbolos que no intentaron transmitir información genética, simplemente buscaban facilitar la información del fenotipo. Cada antígeno se le da un nombre, generalmente en orden de descubrimiento y es asignado al sistema Rh.

La presencia de un antígeno o un eritrocito es indicado por el nombre apropiado después de la designación al sistema. Rh.^{32, 33}

Los principales genes Rh complejos y antígenos encontrados³³

| HAPLOTIPO | GENES PRESENTES | ANTÍGENOS PRESENTES | FENOTIPO |
|-----------------|----------------------|---------------------|-----------------|
| R1 | RHD,RHc ^e | D,C,e | R1 |
| R2 | RHD,RHc ^E | D,c E | R2 |
| R0 | RHD,RHc ^e | D,c,e | R0 |
| RZ | RHD,RHc ^E | D,C,E | Rz |
| r ['] | RHc ^e | C,e | r ['] |
| r ^{''} | RHc ^E | c,E | r ^{''} |
| r | RHc ^e | c,e | r |
| ry | RHc ^E | C,E | ry |

3.8.2.9 Notaciones de los haplotipos.

Las notaciones de fenotipo se denotan con las letras romanas R y r, para los haplotipos que producen o no D, respectivamente.³³

3.8.2.10 Determinación del fenotipo.

En la práctica clínica, existen 5 fenotipos sanguíneos que se pueden determinar fácilmente con reactivos disponibles: Anti-D, -C, -E, -c, -e.

Los estudios rutinarios en medicina pretransfusional incluyen sólo pruebas para D. Otros reactivos son usados principalmente en la resolución de problemas de anticuerpos o en estudios de familia. La diversidad de antígenos descubiertas sobre los eritrocitos de una persona constituye el fenotipo de esa persona y se puede deducir el genotipo Rh.

La identificación de antígenos no siempre permite la deducción confidencial del genotipo. Las presunciones en cuanto al genotipo más probable se basan en las combinaciones antigénicas establecidas por la realización de estudios demográficos en diferentes grupos étnicos. Las inferencias sobre el genotipo son útiles en estudios demográficos y en la investigación de pruebas de consanguinidad disputada. Tales análisis son también empleados para predecir si el compañero sexual de una mujer con anticuerpos Rh probablemente transmite los genes que causarán una descendencia negativa o positiva para el antígeno en particular.

Existen técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que ha sido presentada como un método confiable para la determinación de los aminoácidos en el genotipo fetal.

Avances más recientes en pruebas no invasivas prenatales ha usado el plasma materno como una fuente de ADN fetal. Esta técnica muestra las diferencias entre el RHD y genes RHCE y puede adaptarse al objetivo al antígeno de opción. Hay, sin embargo, ocasiones raras cuando los

| | | | | |
|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Fenotipo | MNss | MNSs | MMSs | NNss |
|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|

resultados del genotipo son diferentes a los resultados serológicos.³³

3.8.2.11 Expresión de D

Diferentes muestras de eritrocitos D positivos pueden tener diferente reactividad con reactivos anti-D. La mayor parte de los eritrocitos D-positivos muestran aglutinación macroscópica definida luego de la centrifugación con un suero reactivo y pueden clasificarse con facilidad como D-positivos. Los eritrocitos que no son inmediatos o directamente aglutinados no pueden ser tan fácilmente clasificados. Para algunos eritrocitos D-positivos, la demostración del antígeno D requiere una incubación prolongada con el reactivo anti-D o la adición de suero antiglobulina luego de una incubación con anti-D.

Estas células son consideradas D-positivas, aunque haya sido necesario un paso adicional en la prueba.

3.8.2.12 Anticuerpos Rh en el suero de un paciente

Con excepción de algunos ejemplares de anti-E, anti-C^w no estimulados por eritrocitos, y anticuerpos contra infrecuentes antígenos de baja incidencia, la mayor parte de los anticuerpos Rh son consecuencia de la exposición a eritrocitos humanos por embarazo o transfusión. El D es el inmunógeno más potente, seguido de c y E. Aunque algunos ejemplos de anticuerpos Rh se comportan como aglutinas en solución salina, la mayoría reacciona mejor en sistemas de prueba ricos en proteínas, antiglobulina o enzimas. Aún los sueros que contienen anti-D potente reactivo en solución salina son usualmente reactivos a diluciones mayores en pruebas de antiglobulina. Algunas veces se considera especialmente útil las técnicas con enzimas para la detección de anticuerpo débiles o en desarrollo.

3.8.3 Sistema M N S s (002)

3.8.3.1 Frecuencia de los fenotipos

M/N y S/s Locus estrechamente ligados en el cromosoma 4. Si no ocurre entrecruzamiento entre los loci de M/N y S/s (raro), los haplotipos MNSs (complejos genéticos) se heredan intactos. Los cuatro haplotipos comunes son MS, Ms, NS (menos común), Ns (más común).

Frecuencia establecida entre los fenotipos de la población mestizo-mexicana y raza blanca del sistema MNSs^{32, 34}

| | | | | |
|---------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Mestizo-mexicana % | 18.08 | 17.24 | 23.29 | 7.14 |
| Fenotipo | MMss | MMSS | MNSS | NNss |
| Mestizo-mexicana % | 15.39 | 11.18 | 4.3 | 4.3 |
| Fenotipo | M | N | S | s |
| Blancos % * | 78 | 72 | 55 | 89 |

3.8.3.2 Antígenos de alta incidencia.³²

| | |
|--------------------|---|
| MNS28 | U |
| MNSs | |
| MNS29 | |
| MNS30 | |
| En ^a | |
| En ^a KT | |
| N | |
| U | |

Los hematíes U^{débil} y U – son raros y se detectan sólo en la raza negra. Casi todos son S- y s-. El gen Dante produce un antígeno reconocido por la mayoría de anti-s, pero no expresa el antígeno U.

3.8.3.3 Antígenos de baja incidencia.

MN1 al MN 38

3.8.3.4 Datos serológicos.

Anti-M y Anti-N generalmente son aglutininas salinas, que reaccionan óptimamente a TA o a 4^o C. Generalmente no tienen importancia clínica y pueden ser de producción natural. Con frecuencia muestran efecto de dosis y no fijan complemento.

La mayoría de anti-M un componente Ig G pero pueden ser parcial o completamente Ig M. La reactividad puede aumentar con un pH de 6.5. El autoanti-M es relativamente común, pero también se han descrito autoanticuerpos asociados con anemias hemolíticas autoinmunes. Anti-N es mayormente Ig M y generalmente muestra aglutinación débil.

Anti-S y Anti-s son anticuerpos producidos en respuesta a un estímulo eritrocitario, generalmente reaccionan en la PAI y son de importancia clínica. Estos anticuerpos se observan infrecuentemente. Autoanticuerpos de estas especialidades raramente han sido asociados con anemias hemolíticas autoinmunes. Anti-s es generalmente Ig G; anti-S puede ser Ig M o Ig G.

Los anticuerpos pueden mostrar efecto de dosis y fijar complemento. Su reactividad puede aumentar si la prueba se incuba a TA antes de la PAI. Anti-U es generalmente Ig G, producido en respuesta a un estímulo eritrocitario. Los anticuerpos reaccionan en la PAI y son de importancia clínica. Se detectan de manera exclusiva en la raza negra. Pueden mostrar efecto de dosis y fijar complemento. Se ha descrito la anemia hemolítica autoinmune debido a anti-U.

3.8.3.5 Datos clínicos.

Reacciones Transfusionales.

Anti-M y anti-N. Muy rara. Son de importancia clínica solo si reaccionan a 37^o C. Anti-N. Frecuentemente Ig G y de importancia clínica en las personas de fenotipo S-s-U-o. S-s-U débil. Puede confundirse con anti-U, ya que reacciona intensamente con el antígeno N, el cual está ausente en los eritrocitos S-s-U- y s-s-U débil.

La característica distintiva es la reactividad con hematíes N+ U-anti-N, se detectaba frecuentemente en el suero/plasma de pacientes sometidos a diálisis. Esto era debido a la esterilización de las membranas de diálisis con formaldehído.

Anti-S, anti-U; Infrecuente, pueden causar reacciones hemolíticas inmediatas o retardadas.

Algunos pacientes con anti-U, pueden tolerar la transfusión con hematíes U débil otros no.

3.8.3.6 EHRN.

La EHRN debido a anti-M es rara, solo se han documentado cuatro casos severos a pesar que Kornstad observó que después de anti-K, anti-M es el segundo anticuerpo no Rh más común. Anti-N. El anticuerpo es extremadamente raro, excepto en individuos de fenotipo M+N-S-s. Se han descrito algunos casos severos de EHRN. Anti-S, anti-s, anti-U. Infrecuente, la EHRN es de moderada a severa. Todos los anti-U deben considerarse capaces de causar EHRN.

3.8.3.7 Datos bioquímicos.

Dos genes estrechamente ligados. GYPA y GYPB, producen las sialoglicoproteínas, Glicoforina A y Glicoforina B (Gpa y GPB respectivamente). Los antígenos M N. y ena se encuentran en la GPA. Los antígenos S, s, U y N, se encuentran en la GPB. Los antígenos se diferencian debido a sustituciones en la porción N-terminal de la GPA o GPB.

Un antígeno "tipo N" ('N') se detecta en la mayoría de los hematíes indiferente del fenotipo MN debido a que los primeros 26 amino ácidos de la GPB son idénticos a los de la GPA con especificidad N. Los hematíes U- que carecen de GPB son S-s-N-.

Los eritrocitos. En(a) carecen de GPA. Los eritrocitos de individuos Mk Mk carecen de GPA y GPB.

Alteraciones adicionales de la GPA o GPB son el resultado de sustituciones en los aminoácidos, entrecruzamiento desigual y conversiones genéticas que incluyen GYPA y GYPB. Estos cambios en la secuencia de amino ácidos pueden producir antígenos de baja incidencia o alterar la expresión de los antígenos principales del sistema MNSs.

Se dispone de reactivos comerciales anti-M y anti-N monoclonales murinos. La ventaja de ambos reactivos es que permiten la incubación uniforme, a temperatura ambiente, a diferencia de los reactivos humanos, lectinas o reactivos de conejo que necesitaban de incubación a diferentes temperaturas durante diferentes periodos de tiempo.

Reactivos anti-He y anti-Mg monoclonales murinos pueden ser útiles en estudios bioquímicos, de poblaciones o de paternidad.

3.8.4 Sistema P (003)

3.8.4.1 Historia.

EN 1927, Landsteiner y Levine descubrieron anti-P₁ durante experimentos con animales en los que se inocularon conejos con hematíes humanos. El antisuero que se obtuvo contenía un anticuerpo que definía a un antígeno hasta ese entonces no conocido, que originalmente fue llamado P, pero posteriormente se cambió el nombre a P₁. P₁ es el único antígeno del sistema P.

Originalmente se pensó que los antígenos P, P^k y Luke formaban parte del sistema P, pero desde entonces han sido asignados a la Colección de Globósidos (209). Si existe un antígeno p, el fenotipo que denota la ausencia de P₁, P y P^k, no ha sido asignado a un sistema por la ISBT.^{29, 30}

3.8.4.2 Antígenos del sistema.³²

| ISBT | NOMBRE ALTERNATIVO |
|------|--------------------|
| P1 | P ₁ |

3.8.4.3 Frecuencia establecida entre los fenotipos de la población mexicana y raza blanca del sistema P.^{22, 32, 34}

| FRECUENCIA | PI+ | P1- |
|------------------|-------|-------|
| Mestizo-mexicana | 68.89 | 31.10 |
| Blancos % * | 80 | 20 |

3.8.4.4 Antígenos de alta y baja incidencia.

P_1 es el único antígeno del sistema P, no hay antígenos de alta o baja incidencia asociados con él.

Alta Incidencia.

El antígeno P es de alta incidencia y está ausente solo en los hematíes p, P_1^k y P_2^k anti-P generalmente reacciona como una aglutinina directa en pruebas salinas con hemólisis a 37° C, si el suero es fresco. El anticuerpo en la hemoglobinuria paroxística fría (anticuerpo de Donaath-Landsteiner) puede ser anti-P, en tal caso, es una hemolisina IgG bifásica.

El primer anticuerpo anti-P monoclonal fue descrito en 1986.

LKE es un antígeno de alta incidencia eritrocitos P+LKE- muestran incremento en la expresión de P^k , comparado a hematíes P+LKE. En 1986 fue descrito un anticuerpo murino que reacciona con hematíes Luke+ pero no con hematíes Luke-.

Baja Incidencia.

El antígeno P^k puede estar presente en hematíes P_{1+} o P_{1-} . En el caso anterior se llama P_1^k , en el caso posterior P_2^k . el antígeno P^k es de baja incidencia mediante pruebas estándar de hemaglutinación. Sin embargo, puede detectarse en los fibroblastos y linfocitos de individuos P_{1+} y P_{1-} con técnicas especiales.

Los hematíes P^k+ carecen de antígenos P detectables, y todos los individuos de este fenotipo producen anti-P como un anticuerpo esperado.

Se han producido anticuerpos monoclonales murinos potentes dirigidos contra el antígeno P^k .

3.8.4.5 Datos serológicos.

Muchos individuos de fenotipo P_{1-} producen anti- P_1 sin un estímulo eritrocitario, pero, puede ser necesario emplear técnicas especiales, como la incubación en el refrigerador, O el uso de hematíes de detección P_{1+} fuertes para detectarlo. Sustancias solubles, disponibles comercialmente, inhiben la actividad de anti- P_1 .

Personas de fenotipo p (que carecen de los antígenos P, p^k y P_{1+}) producen un anticuerpo al que se llamaba anti-Tj^a, pero que actualmente se conoce como anti- PP_1p^k . Este anticuerpo frecuentemente es de alto título y reacciona como una aglutinina directa. Debido a que fija complemento, puede causar hemólisis de hematíes que no son de fenotipo p; si el suero es lo suficientemente fresco como para tener complemento activo. El anti-P que producen los individuos P^k+ se comporta de la misma manera.

Anti-Luke además de no reaccionar con los hematíes p y P^k , tampoco reacciona con alrededor del 2% de hematíes de personas de fenotipo P_{1+} o P_{1-} .

3.8.4.6 Datos clínicos.

Reacciones Transfusionales.

La mayoría de pacientes con anti- P_1 no aumentaron el título del anticuerpo después de haber sido inyectados con hematíes P_{1+} .

Anti- P_1 generalmente no fija complemento. En 1945, Moreau describió una reacción inmediata. En 1977 se observó una reacción retardada debido a anti- P_1 .

3.8.4.7 EHRN.

La EHRN nunca ha sido atribuida a anti- P_1 . no está bien desarrollado en el momento del nacimiento.

Levine y Dock describieron la inusual incidencia de abortos espontáneos en mujeres de fenotipo Tj(a...), ahora llamados PP_1P^k- , y lo atribuyeron a la presencia de anti- PP_1P^k , aunque nunca ha sido probado.

3.8.4.8 Datos bioquímicos y genéticos.

El antígeno P y los antígenos que pertenecen a la Colección de Globósidos son glucoesfingolípidos. Los antígenos P₁ y P^k se detectan en el uroepitelio, donde estos receptores tienen una parte importante en la patogenicidad de algunos casos de pielonefritis.

Anti-P es inhibido por los globósidos y muchos también son inhibidos por el antígeno Forssman. Lo cual indica que los anticuerpos P representan una respuesta heterogénea a los globósidos y al antígeno Forssman (presente en muchos tejidos de animales), así como a reacciones cruzadas con antígenos microbianos. El antígeno P es el receptor celular para el parvovirus B19.

El reactivo anti-P₁ monoclonal está disponible comercialmente.

En 1927, Landsteiner y Levine descubrieron anti-P1 durante experimentos con animales en los que se involucraron conejos con eritrocitos humanos. El antisuero que se obtuvo contenía un anticuerpo que definía a un antígeno, hasta ese entonces no conocido, que originalmente fue llamado P. Pero posteriormente se cambió el nombre a P1.^{34, 35}

3.8.5 Sistema Kell: K , k (006)

3.8.5.1 Historia.

Los antígenos Kell son importantes debido a su alta inmunogenicidad. El antígeno K (anteriormente llamado Kell) producirá una respuesta inmune en al menos uno de 20 pacientes transfundidos con una unidad K+. El antígeno K fue descrito en 1946 por Coombs, en un caso de enfermedad hemolítica del recién nacido. Hoy en día, es un faux pas terminológico llamar "al antígeno K, Kell". El nombre debe emplearse para el sistema.

En 1949, el antígeno antitético k fue descubierto por Levine y colaboradores. Posteriormente, Allen y colabs, describieron Kp^a y su alelo Kp^b en 1957 y 1958. En 1958 y 1963, los antígenos Js^a y Js^b fueron descritos por Giblett y colabs y Walter y colabs, respectivamente. En 1957, Chown y colabs, describieron una sangre que no tenía antígenos del sistema Kell, K_o (Kell_{nulo}). En 1961, Corcovan y colabs describieron Ku (K5). Ku es "Kell total," el antígeno contra el cual los individuos K_o pueden producir un anticuerpo.

En los años 70 y 80 fueron descritos de K10 a K14 y de K16 a K24. No se ha probado que todos estos antígenos pertenezcan al sistema Kell; algunos son llamados "antígenos para-Kell" ya que no se ha demostrado que sean controlados por el locus KELL.

Los antígenos están bien desarrollados al momento del nacimiento, y se detectan en los hematíes de sangre de cordón.

El fenotipo McLeod surge a consecuencia de la acción de un gen ligado al cromosoma X (Xk), que codifica por el antígeno Kx. Kx no es un antígeno del sistema Kell, pero su ausencia es acompañada por la disminución en la expresión de los antígenos del sistema Kell. La ausencia del antígeno Kx puede causar cambios morfológicos en los hematíes, los cuales reducen su supervivencia. También se asocia con una anomalía del sistema neuromuscular exclusiva en varones, pero no acompañada por la morfología anormal de los hematíes. El estado clínico se conoce como el síndrome de McLeod.

3.8.5.2 Antígenos del sistema. ³⁴

| ISBT | NOMBRE ALTERNATIVO | FRECUENCIA % |
|-------|----------------------------|----------------|
| KEL1 | K(ANTERIORMENTE KELL) | 9.0 |
| KEL2 | K CELLANO | 99.8 |
| KEL3 | KP ^A PENNEY | 2.0 |
| KEL4 | KP ^B RAUTENBERG | >99.9 |
| KEL5 | KU TOTAL KELL | >99.9 |
| KEL6 | JS ^A SUTTER | BLANCOS < 0.1 |
| | | NEGROS 19.5 |
| KEL7 | JS ^B MATTHEWS | BLANCOS > 99.9 |
| | | NEGROS 99.7 |
| KEL10 | U1 ^A | FINNS 2.6 |
| | | OTROS < 0.1 |
| KEL11 | COTÉ | > 99.9 |
| KEL12 | BOCKMAN | > 99.9 |
| KEL13 | SGRO | > 99.9 |
| KEL14 | SANTINI | > 99.9 |
| KEL16 | K-LIKE | 99.8 |
| KEL17 | WK ^A WEEKS | 0.3 |
| KEL18 | MARSHALL | > 99.9 |
| KEL19 | SUBLETT | > 99.9 |
| KEL20 | KM | > 99.9 |
| KEL21 | KP ^C LEVAY | 0.1 |
| KEL22 | IKAR | > 99.9 |
| KEL23 | CENTAURO | < 0.1 |
| KEL24 | CLS | < 2.0 |

3.8.5.3 Fenotipos comunes.

Algunas combinaciones de antígenos Kell ocurren con frecuencia, mientras que otras son raras. Las diferencias son marcadas entre ciertos grupos raciales. Por ejemplo, Js^a se detecta predominantemente en personas de descendencia africana, mientras Kp^a se detecta en la raza blanca. En los japoneses, el alelo de Kp^b es Kp^c, no Kp^a, como en los europeos.

En el fenotipo K+k+Kp(a+), el antígeno k es siempre débil. En estas personas, los antígenos K y Kp^a siempre son heredados de diferente progenitor. Nunca son el producto de un mismo gen.

Frecuencia establecida entre los fenotipos de la población mestizo-mexicana y raza blanca del sistema Kell. ^{32, 34}

| Fenotipo | Kk | kk | KK |
|--------------------|-------|------|-----|
| Mestizo-mexicana % | 1.90 | 98.1 | 0.0 |
| Blancos % | ----- | 99.8 | 9 |

3.8.5.4 Antígenos de alta incidencia.^{32, 34}

| |
|-------|
| KEL2 |
| KEL4 |
| KEL5 |
| KEL7 |
| KEL11 |
| KEL12 |
| KEL13 |
| KEL14 |
| KEL16 |
| KEL18 |
| KEL19 |
| KEL20 |
| KEL22 |

3.8.5.5 Antígenos de baja incidencia.³⁴

| |
|-------|
| KEL3 |
| KEL6 |
| KEL10 |
| KEL17 |
| KEL21 |
| KEL23 |
| KEL24 |

Antígenos para Kell.³⁴

| |
|-------|
| KEL12 |
| KEL13 |
| KEL14 |
| KEL18 |
| KEL19 |
| KEL22 |
| KEL23 |
| KEL24 |

Antígenos "alelos".³⁴

| |
|-------------|
| KEL1 Y 3 |
| KEL4 y 21 |
| KEL6 y 7 |
| KEL 11 y 17 |
| KEL14 y 24 |

3.8.5.6 Datos serológicos.

Los anticuerpos del sistema Kell generalmente reaccionan mejor en la PAI, algunos han surgido sin un estímulo eritrocitario y pueden mostrar aglutinación directa. La mayoría no fija complemento. Los antígenos no son destruidos por el tratamiento con enzimas.

Los antígenos Kell son destruidos por el tratamiento con AET, DTT o ZZAP y por las técnicas de elusión ácida/EDTA. Estas técnicas son útiles en la identificación de anticuerpos del sistema Kell.

3.8.5.7 Datos clínicos.

Reacciones Transfusionales.

Anti-K, -k, -Kp^a, Kp^b, -Js^a, y -Js^b pueden causar RHT, algunas con consecuencias fatales. La hemólisis es extravascular. 10% de los pacientes con anticuerpos del sistema Kel sufren hemólisis inmune.

3.8.5.8 EHRN.

Anti-K, -k, -Kp^a, -Kp^b, -Js^a, -Js^b, -Ku, -KEL14, -KEL22 y -KEL23 pueden causar EHRN. Anti-K y anti-k parecen ser la causa de las más severas.

3.8.5.9 Datos bioquímicos y genéticos.

Los antígenos del sistema Kell se encuentran en una glicoproteína de la membrana eritrocitaria con una masa molecular de 93kD. Los puentes disulfuro de esta molécula son importantes a la integridad de los antígenos KEL. Los hematíes K+k+ tienen alrededor de 4,000 determinantes antigénicos KEL1.

La posición cromosómica del gen KEL es 7q33.

El gen Xk codifica por la glicoproteína Kx, y está ubicado en el cromosoma X en la posición Xp21.1.

Se dispone comercialmente de reactivos anti-K monoclonales que aglutinan hematíes K+ directamente, sin la PAI, para uso rutinario. Todos podrían ser derivados del mismo hibridoma (MS56).^{34, 35, 36, 37}

3.8.6 Sistema Lewis: Le (007)

3.8.6.1 Historia.

Historia antígeno del sistema Lewis, le^a fue descrito en 1946 por Morant. El antígeno alelo Le^b fue descrito en 1948 por Andresen. Poco después, Andresen y Jordal describieron un anticuerpo al que llamaron anti-Le^k, el cual algunos investigadores pensaron era inseparable anti-Le^a + anti-Le^b.

Aunque este anticuerpo reaccionaba con hematíes Le^a o Le^b, su reactividad era inusual porque los eritrocitos de sangre de cordón eran tan positivos como los hematíes de adulto, lo que no sucede con anti-Le^a y anti-Le^b.

3.8.6.2 Antígenos.

Frecuencia establecida entre los fenotipos de la población mestizo-mexicana y la raza blanca del sistema Lewis.^{32, 34}

| Fenotipo | Le(a+b+) | Le(a-b+) | Le(a+b-) |
|--------------------|----------|----------|----------|
| Mestizo-mexicana % | 9.80 | 91.08 | 0.12 |
| Blancos % | Raro | 72.00 | 22.00 |

2.8.6.3 Antígenos de alta incidencia.

Le^{ab} es lo más cercano a un antígeno de alta incidencia en este sistema aunque escasamente califica en términos iguales con los antígenos de alta incidencia de otros sistemas. El antígeno está ausente en tanto como el 6% de blancos y 22% de negros.

| SBT | NOMBRE ALT. |
|-----|------------------|
| LE1 | Le ^a |
| LE2 | Le ^b |
| LE3 | Le ^{ab} |

3.8.6.4 Antígenos de baja incidencia.

No existen antígenos de baja incidencia asociados al sistema Lewis.

3.8.6.5 Le (Lewis) y Se (Secretor).

El antígeno Le^a resulta cuando el gen Le está presente pero el gen Se no. Sin embargo, cuando el gen Se está presente con Lec, se produce el antígeno Leb. Los hematíes de individuos homocigotos para el gen le, son de fenotipo Le(a-b-), indiferente de ser o no un secretor.

El antígeno Le^c se detecta en los no secretores de este fenotipo, en los secretores, se detecta Le^d. Ni Le^c ni Le^d deben considerarse como antígenos Lewis. Le^d es correctamente llamado Tipo 1 H.³⁵

| COLECCIÓN | |
|-----------|-----------------|
| 210001 | Le ^c |
| 210002 | Le ^d |

3.8.6.6 Datos serológicos.

Los anticuerpos del sistema Lewis se detectan frecuentemente en individuos de fenotipo Le(a-b-). Las mezclas de los dos es relativamente común, aunque ambos no reaccionan con la misma intensidad. Estos anticuerpos se detectan frecuentemente en pruebas a temperatura ambiente, pero algunas veces puede observarse aglutinación a 37° C con anti-Le^a, frecuentemente con hemólisis. Si se observa reactividad en la PAI, es debido a la actividad anticomplemento del reactivo AGH. Los hematíes Le(a+) y Le (b+) tratados con enzimas muestran mayor reactividad y la actividad hemolítica de anti-Le^a se incrementa con el tratamiento con enzimas. Se han diferenciado dos formas de Anti-Le^b. El anti-Le^{bl}. Reacciona con igual intensidad con hematíes de todos los grupos ABO; anti-Le^{bh} reacciona mejor con hematíes grupo O y grupo A² que con hematíes A¹ y A1B. Anti-Le^a ha sido descrito como un autoanticuerpo, pero esto es raro.

Las sustancias solubles preparadas a partir de saliva humana o la disponible como producto comercial son útiles en la identificación de anticuerpos Lewis.³⁵

3.8.6.7 Datos clínicos.

Reacciones Transfusionales.

Las sustancias Lewis en el plasma de donantes rápidamente neutralizan los anticuerpos Lewis en el suero de receptores. Por lo tanto, es raro que los anticuerpos Lewis causen hemólisis inmune. Anti-Le^a puede causar RHT, pero ciertos estudios indican que es suficiente el administrar sangre compatible. No se ha documentado ningún caso de RHT debido a anti-Le^b aunque, supuestamente, ha sido la causa de disminución en la sobrevivencia de eritrocitos.

3.8.6.8 EHRN.

Los antígenos Lewis no se expresan al momento del nacimiento y los anticuerpos son mayormente IgM; por lo tanto, no producen EHRN.

Una característica interesante de los antígenos Lewis es que pueden disminuir durante el embarazo al punto que mujeres embarazadas muchas veces produce anticuerpos Lewis que desaparecen cuando vuelven a su fenotipo Lewis normal después del parto.³⁵

3.8.6.9 Datos bioquímicos.

Los antígenos del sistema Lewis no son producidos por los hematíes, pero se presentan en los tejidos y son absorbidos del plasma a la membrana eritrocitaria. Individuos de fenotipo Le(a-b+) tienen sustancia Le^a así como Le^b en sus secreciones. Aunque el fenotipo Lewis-negativo existe a nivel serológico, a nivel químico, no es un fenómeno de "todo o nada".

El gen Le está ubicado en el cromosoma 19. el gen induce la producción de la fucosil transferasa que agrega fucosa a la cadena precursora ABH tipo 1 en los tejidos secretores.

Personas Le(a-b-) que reciben un trasplante de riñón pueden producir anti-Le^a y/o anti-Le^b que supuestamente puede atacar el riñón del donante, causando el rechazo del órgano. Un estudio más extenso demostró que no existían diferencias significativas en la supervivencia de injertos que no eran de fenotipo Lewis similar.

Se han desarrollado anticuerpos monoclonales murinos dirigidos contra los antígenos Le^a y Le^b. Varios hibridomas producen estos anticuerpos posibilitando su disponibilidad comercial. Estos reactivos son más fiables que los de origen humano, o los preparados a partir del suero de cabra.³⁵

3.8.7 Sistema Duffy: Fy (008)

3.8.7.1 Historia.

El antígeno Fy^a fue identificado por primera vez en 1950. Anti-Fy^b fue descubierto el año siguiente. En 1955, se reportó que la mayoría de la sangre de los individuos de raza negra que había sido analizada carecía de los antígenos Fy^a o Fy^b, eran de fenotipo Fy(a-b-), el cual es extremadamente raro en la raza blanca. Sin embargo a primera persona que produjo anti-Fy3, un anticuerpo que reacciona con todos los hematíes Fy (a+) o Fy (b+), era de raza blanca y de fenotipo Fy(a-b-). Anti-Fy3 no es una mezcla de anti-Fy^a y anti-Fy^b. La segunda persona que produjo anti-Fy3 tampoco era de raza negra. Era una Nativa Americana, miembro de la tribu Cree en Canadá.

Desde 1973 se han descrito tres antígenos adicionales del sistema Duffy, Fy4, Fy5 y Fy6.^{34, 35}

3.8.7.2 Antígenos.

| ISBT | NOMBRE ALT. | FRECUENCIA % BLANCOS |
|------|-----------------|-------------------------|
| FY1 | FY ^A | 67 |
| FY2 | FY ^B | 83 |
| FY3 | FY3 | > 99.9 |
| FY4 | FY4 | RARO |
| FY5 | FY5 | > 99.9 |
| FY6 | FY6 | > 99.9 |

3.8.7.3 Frecuencia de los fenotipos.

Frecuencia establecida entre los fenotipos de la población mestizo-mexicana y raza blanca del sistema Duffy.^{32,35}

| Fenotipo | Fy (a+b-) | Fy(a-b+) | Fy(a+b+) | Fy(a-b-) |
|--------------------|-----------|----------|----------|----------|
| Mestizo-mexicana % | 40.67 | 15.00 | 42.65 | 1.65 |
| Blancos % * | 17.00 | 34.00 | 49.00 | Muy raro |

La incidencia del antígeno Fy^a es del 100% en los Melanesios.

3.8.7.4 Antígenos de baja incidencia.

No hay antígenos de baja incidencia asociados con el sistema Duffy.

3.8.7.5 Antígenos inusuales.

En 1982, fue descrito un antígeno llamado Fs. Es producido por un gen que se segrega independientemente del locus FY pero, curiosamente, el anticuerpo que lo reconoce reacciona preferentemente con hematíes de fenotipo Fy(a-b-).

El gen Fy^x produce un antígeno Fy^b de expresión débil y con una frecuencia aproximada del 1.3% en la raza blanca.

3.8.7.6 datos serológicos.

Los anticuerpos del sistema Duffy raramente se comportan como aglutininas directas. Muchos anti-Fy^a y anti-Fy^b activan el complemento. La mayoría son de clase Ig G1 y son el resultado de estímulo eritrocitario. Algunos muestran efecto de dosis. No reaccionan en técnicas enzimáticas debido a que los antígenos Fy^a y Fy^b (y Fy6) son destruidos por las enzimas Fy3, Fy4 y Fy5 no lo son.

Se han descrito autoanticuerpos de aparente especificidad anti-Fy^a y anti-Fy^b.

3.8.7.7 Datos clínicos.

Reacciones hemolíticas transfusionales han sido atribuidas a anti-Fy^a, algunas de ellas fatales. Anti Fy^b, sucede con menor frecuencia, pero también ha sido implicado en reacciones hemolíticas transfusionales incluso en muertes.

No existen informes con respecto a anti-Fy3 y anti-Fy4, pero anti-Fy5 podría haber sido la causa de una reacción transfusional.

3.8.7.8 EHRN.

Los antígenos Fy^a y Fy^b están bien desarrollados al momento del nacimiento y aunque son de clase IgG, ninguno de los anticuerpos es causa frecuente de la EHRN. Algunos Casos que implicaron anti-Fy^a necesitaron exanguinotransfusión. Sólo se ha descrito un caso de EHRN debido a anti-Fy^b y fue moderada. También se ha descrito EHRN moderada debido a anti-Fy3. No se ha asociado ninguna con anti-Fy4 o anti-Fy5.

3.8.7.9 Datos bioquímicos y genéticos.

Los antígenos del sistema Duffy, Fy^a y Fy^b, están asociados con polimorfismo en el residuo de amino ácidos 44 de la glicoproteína Duffy.

El locus FY se encuentra en el cromosoma 1 en 1q22-q223, Fy¹, Fy^b, Fy^x y Fy son alelos.

El antígeno FY4 podría, concebiblemente, ser codificado por un locus diferente y mostrar una relación pseudo-alélica con los otros antígenos Duffy, ya que el fenotipo Fy(a-b-) parece carecer de la glicoproteína Duffy.

Los hematíes Fy(a-b-) son resistentes a la invasión por los parásitos maláricos Plasmodium knowlesi y P. vivax. El antígeno Fy6 ha sido reconocido como el lugar de invasión de P. vivax

3.8.8 Sistema Kidd: Jk (009)

3.8.8.1 Historia.

El antígeno Jk^a fue descrito en 1951, y Jk^b en 1953. En 1959 fue descrito el fenotipo Jk(a-b-). Casi todas estas sangres son JK: -3; sin embargo, se han descrito dos familias en las que las hematíes de algunos de sus miembros, eran Jk(a-b-) JK: 3. En 1961, Crawford y colaboradores, documentaron la transmisión del gen amorfo Jk en forma homocigoto.

3.8.8.2 Antígenos.

Frecuencia establecida entre los fenotipos de la población mestizo- mexicana y raza blanca del sistema Kidd (Jk). ^{34, 37, 38}

| Fenotipo | Jk(a+b-) | Jk(a-b+) | Jk(a+b+) |
|---------------------|----------|----------|----------|
| Mestizo- mexicana % | 25.19 | 18.02 | 56.78 |
| Blancos %* | 77.00 | 74.00 | >99.9 |

El antígeno JK3 está presente cuando los antígenos Jk^a o Jk^b son producidos y es reconocido por el anticuerpo que producen los individuos de fenotipo Jk(a-b-).

Anti-Jk3 reacciona con un determinante compartido en los hematíes cuando los antígenos Jk^a o Jk^b están presentes, y no es solo una mezcla inseparable de anti-Jk^a y anti-Jk^b. el fenotipo Jk(a-b-) Jk: -3 es frecuente en ciertas poblaciones de las islas del Pacífico. Su frecuencia puede ser alrededor del 1%, Mucho más alta en partes aisladas de Nueva Guinea, donde existe mucha

consanguinidad. En 1975, Habibi estudió a una familia francesa de raza blanca en la que dos hermanos eran Jk(a-b-).

El fenotipo Jk(a-b-) puede ser el resultado de un gen supresor In (Jk), homocigocidad de un gen amorfo, o ser transitorio.

3.8.8.4 Antígenos de baja incidencia.

No existen antígenos de baja incidencia. Asociados con el sistema Kidd.

3.8.8.5 Datos serológicos.

Los anticuerpos Kidd reaccionan de manera óptima en la prueba de antiglobulina. Algunas veces los anticuerpos aglutinan directamente hematíes tratados con enzimas, y la aglutinación directa de hematíes no tratados se ha observado en ocasiones. Esos anticuerpos son generalmente por lo menos parcialmente IgM, y pueden ser difíciles de detectar en la prueba de antiglobulina, excepto con un reactivo de AGH que contiene un componente anti-complemento. Sin embargo, no todos los anticuerpos Kidd fijan complemento.

Los anticuerpos Kidd, anti-Jk^a en particular, se caracterizan por mostrar efecto de dosis, reaccionando más intensamente con los hematíes con expresión homocigoto del antígeno que con los heterocigotos.

Los anticuerpos Kidd raramente han sido causantes de anemias hemolíticas autoinmunes, pero las tres especificidades se han descrito como autoanticuerpos. Algunos autoanti-Jka han sido asociados con drogas como clorpropamida y Parabeno.

Los antígenos Kidd no son destruidos por enzimas, o por enzimas más agentes reductores (como en el reactivo ZZAP), cloroquina difosfato o bromuro de 2 aminoetilisotiuronio (AET).

3.8.8.6 Datos clínicos.

Reacciones Transfusionales.

Los anticuerpos Kidd pueden causar reacciones transfusionales inmediatas o retardadas y después desaparecer. Esto no es siempre el caso. Se ha descrito un caso en el que anti-Jk^b había persistido por 16 años. Los anticuerpos Kidd pueden causar hemólisis extravascular: los que fijan complemento pueden causar destrucción intravascular de los hematíes.

Los anticuerpos Kidd que no son de clase Ig M, generalmente son Ig G de subclases 1 y 3.

3.8.8.7 EHRN.

Los anticuerpos Kidd pueden causar EHRN, pero esta es generalmente moderada. Los antígenos Kidd están bien desarrollados en el momento del nacimiento. La severidad de la EHRN es moderada debido a que la concentración del anticuerpo generalmente no es alta y la cantidad de anticuerpo que atraviesa la placenta está relacionada con el título.

3.8.8.8 Datos bioquímicos y genéticos.

Los antígenos Kidd se encuentran en una proteína de 50kD. Se ha reconocido recientemente que la misma proteína porta los antígenos Kidd y la función de transporte de urea de los hematíes humanos. Esta puede ser la razón por la que los hematíes de fenotipo Jk(a-b-) son resistentes a la lisis por 2M urea, como la que se emplea en los contadores automáticos de plaquetas. Los hematíes se retraen y el instrumento los cuenta como plaquetas, dando un recuento de plaquetas elevado. Muchos de los donantes Jk(a-b-) han sido reconocidos aplicando este método en el escrutinio de poblaciones seleccionadas y más económicamente que empleando antisueros Kidd.

Los eritrocitos Jk(a-b-) carecen de la proteína que porta los antígenos Kidd/urea, y tienen un defecto selectivo en la capacidad de transportar urea. Sin embargo la permeabilidad al agua y

los antígenos de grupo sanguíneo asociados con la aquaforina son normales. El locus Kidd está en el cromosoma 18, en la porción q12-q21.

Anticuerpos monoclonales dirigidos contra los antígenos Jk^a y Jk^b están disponibles comercialmente en EE.UU. Ambos reaccionan como aglutininas directas en medio salino. Estos reactivos hacen posible el tipificar hematíes con una PAD positiva para los antígenos JK^a y JK^b.

El antígeno Jka, perteneciente al sistema Kidd, se encuentra presente en los eritrocitos del 77% de sujetos de raza blanca y en negros en aproximadamente el 90%. Su función parece estar relacionada con el transporte de urea en los eritrocitos, encontrándose codificado en el cromosoma 18. Si bien no es frecuentemente encontrar un anti- Jka como alo-anticuerpo, su existencia como auto-anticuerpo en el contexto de una AHAI es excepcional^{34, 37, 38}

3.8.9 Sistema Diego: Di (010)

3.8.9.1 Historia.

El primer anti-Di^a fue descubierto en Venezuela en 1956, como el causante de enfermedad hemolítica del recién nacido. La familia era de raza blanca, pero algunos mostraban características que sugerían una mezcla con nativos americanos. Esto llevó a reconocer que Di^a es un marcador útil de personas de ascendencia Mongólica, mientras que el antígeno es de extremadamente baja incidencia en otros grupos raciales. Anti-Di^b no fue reconocido hasta 1967, cuando se describieron dos ejemplos.

Anti-Wr^a fue reconocido en 1953, en una mujer que presentaba anti-E en el suero y su hijo E-padecía de enfermedad hemolítica del recién nacido.

Anti-Wr^b se detectó en 1971 en el suero de la única persona Wr(a+b-).

3.8.9.2 Frecuencia antígenos (%).

Frecuencia establecida entre los fenotipos de la población blanca, mestizo-mexicana, chinos, y nativos americanos del sistema Diego^{34, 35, 39}

| Fenotipo | Di(a+) % | Di(b-) % |
|-------------------------------|----------|----------|
| Blancos | < 1 | 0 |
| Chinos | 3-5 | ? |
| Mestizo-mexicanos | 5-6 | 0.3 |
| Nativos Americanos (Amazonas) | 36 | ? |

La alta incidencia de Di^a en Nativos Americanos varía por tribu. Los indios Caribe tienen la incidencia más alta (36%), los Chippewa están en la media (11%); la incidencia en los esquimales es similar a la de los europeos.

Los antígenos Wright, originalmente fueron designados 700001 (Wr^a como un antígeno de baja incidencia) y 900010 (Wr^b como un antígeno de alta incidencia) y posteriormente 211001 y 211002, como "alelos" de la colección Wright, se unieron al sistema Diego cuando se confirmó que su expresión está controlada por el locus DI.

3.8.9.3 Antígenos de alta y baja incidencia.

Antígenos del sistema Diego: Dia, Dib, wra, wrb, Rba, WARR, ECO, Wu, Bpa, Moa, Hga, Vga, Swa, BOW, NFLD, Jna, KREP.³³

El antígeno Di^b es de alta incidencia en la mayoría de las poblaciones. Mas del 99.9% de la población de razas negra y blanca en los EE.UU., son Di(a-b+).

El antígeno Wr^b es de alta incidencia en la población general.

El antígeno Di^a es de baja incidencia en todas las poblaciones excepto de origen Mongoloide (ej., chinos, Japoneses, Nativos Americanos).

El antígeno Wr^a es de baja incidencia en la población general. Alrededor de 1 Caucásico en 1,200 es de fenotipo Wr(a+b+).

El fenotipo Wr(a-b-) es extremadamente raro y fue descrito por primera vez, en 1975 en individuos En(a-), los que carecen de la Glicoforina A (GPA). Posteriormente, fue descubierto que otros individuos que carecen de GPA (M^k M^k), o su porción extracelular cerca de la doble capa de la membrana eritrocitaria debido a alelos en el locus MNS, son Wr(a-b-). Todos estos individuos pueden producir anti-Wr^b como aloanticuerpo.

3.8.9.4 Datos serológicos.

Los anticuerpos anti-Di^a y anti-Di^b son comúnmente anticuerpos inmunes, que reaccionan en la fase de antiglobulina. Anti-Di^a puede ocurrir naturalmente, algunas veces acompañado de anticuerpos múltiples dirigidos contra antígenos de baja incidencia.

Los anticuerpos del sistema Diego generalmente no fijan complemento.

El anti-Wr^a frecuentemente es un anticuerpo natural, acompañado de otras especificidades dirigidas contra antígenos de baja incidencia. En esos casos, es una aglutinina directa en medio salino, aunque se ha observado reactividad en la fase antiglobulina. Anti-Wr^a también se presenta como un anticuerpo inmune.

El Anti-Wr^b es un aloanticuerpo raro, pero la incidencia de autoanti-Wr^b es de 39.1% en anemias hemolíticas autoinmunes, 12.1% en PAD positivas inducidas por alfametildopa, y 26.7 % en sangre de donantes normales con una PAD positiva.

3.8.9.5 Datos clínicos.

Reacciones Transfusionales.

Reacciones hemolíticas transfusionales se han atribuido a anti-Di^a. Anti-Di^b parece ser más benigno. Existe un informe de una reacción transfusional retardada debido a él.

Anti-Wr^a ha sido implicado en casos de RHT.

3.8.9.6 HERN.

Los antígenos Diego están bien desarrollados al momento del nacimiento y la EHRN de moderada a severa ha sido atribuida a anti-Di^a.

Anti-Di^b se asocia con la EHRN de subclínica a moderada. Sin embargo, se considera que anti-Di^b es menos probable que anti-Di^a de causar EHRN.

Anti-Wr^a puede causar EHRN, pero Anti-Wr^b nunca ha sido implicado.

En poblaciones donde el antígeno Di^a es de relativamente alta incidencia (ej., en Japón y América Latina), las pruebas de detección de anticuerpos irregulares deben incluir hematíes Di(a+).

3.8.9.7 Datos bioquímicos

Los antígenos Di^a y Di^b, así como Wr^a y Wr^b, son determinados por sustituciones de amino ácidos en la proteína principal de la membrana eritrocitaria (alrededor de 1 millón de copias por hematíe) conocida como banda 3. La banda 3 forma un complejo con GPA y el anti-Wr^b está dirigido contra este complejo. El gen para la banda 3, conocido como AEI, está ubicado en el cromosoma 17.

El primer anti-Di-a fue descubierto en Venezuela en 1956, como el causante de Enfermedad hemolítica del recién nacido. La familia era de raza blanca, pero algunos mostraban características que sugerían una mezcla con nativos americanos. Esto llevo a reconocer que Di-a es un marcador útil de personas de ascendencia mongólica, mientras que el antígeno es de incidencia extremadamente baja en otros grupos raciales. Existe un informe de una reacción transfusional retardada debido a Di-a. Anti Di-b no fue reconocido hasta 1967^{32, 34,38}

3.8.10 Colección II

3.8.10.1 Historia

En 1955 Wiener y cols., describieron el antígeno I, generalmente detectado por un anticuerpo frío. Posteriormente se describieron ejemplos adicionales y se observó que estos anticuerpos reaccionaban débilmente con eritrocitos de sangre de cordón. En 1960, Marsh y Jenkins detectaron dos anticuerpos fríos que reaccionaban fuertemente con eritrocitos de sangre de cordón y eritrocitos que fueron designados eritrocitos I de adulto. Este anticuerpo, designado anti-i, reaccionaba débilmente con eritrocitos normales de adulto.

Los primeros ejemplos de autoanti-i se detectaron en el suero de pacientes con reticulocitosis y leucemia mieloide. Marsh y Jenkins subdividieron al antígeno I en I^D, desarrollado, detectado en los hematíes de la mayoría de adultos e I^F, fetal, detectado en los hematíes de sangre de cordón y hematíes i de adulto. Más adelante, Booth y cols., describieron el antígeno, I^T, que se expresa intensamente en eritrocitos de sangre de cordón, débilmente en eritrocitos normales de adulto y aún más débil en hematíes i de adulto. Se pensó que I^T representaba al antígeno I en transición de i a I. Anti-I^T se ha detectado en el suero de numerosos Melanesios.

3.8.10.2 Asociación con enfermedad

El fenotipo i de adulto se asocia con cataratas congénitas, especialmente en japoneses. El locus para el antígeno I y el locus para las cataratas congénitas podrían estar estrechamente ligados. Los antígenos I e i alterados están asociados con leucemia, poli aglutinación Tk, talasemia, anemia falciforme, HEMPAS, anemia Diamond Blackfan, anemia mieloblástica y sideroblástica y otras situaciones asociadas con eritropoyesis aumentada (II).

La mayoría de casos de enfermedad por crioprecipitación son debido a anti-I y raramente a anti-i. Anti-I puede aparecer también durante infecciones con *Mycoplasma pneumoniae*. Anti-i se asocia con mononucleosis infecciosa y otras enfermedades linfoproliferativas así como con inmunodeficiencia incluyendo el síndrome Wiskott-Aldrich (50%) y SIDA (64%).

Patologías y su relación con Antígenos I i

Varios reportes han establecido una relación entre desferotropoyesis y alteraciones en la síntesis de los antígenos II en los eritrocitos. Usualmente, esto ha sido manifestado como un aumento de aglutinación con anti-i, y se ha interpretado como reflectancia e incremento de los sitios antigénicos de i. Ocasionalmente se ha registrado, aumento en la aglutinación con anti-I. Lewis, Dacie y Tills probaron en muestras de eritrocitos al azar de pacientes, que padecían de diversas afecciones sanguíneas, para evidenciar el aumento de aglutinación se empleo un suero potente con anti-I. Los resultados fueron comparados con controles de pacientes que no sufrían de enfermedades sanguíneas como también con controles de sujetos normales y recién nacidos. Estas muestras de eritrocitos del grupo de pacientes permitieron realizar aglutinaciones sin límites en este tipo de desorden. Los autores propusieron que era posible atribuir esa observación a un menor defecto de la membrana del eritrocito o, más probablemente, a cambios en la estructura superficial ocurriendo en una variedad de enfermedades sanguíneas.

En 1964, Giblett y Crookston reporta resultados del estudio de 17 pacientes con Talasemia mayor. En cada caso hay un incremento en antígeno i se ha observado. El resultado obtenido con el título de anti-I. Fue sin embargo normal. Se han obtenido conclusiones similares en pacientes (pero no en todos) con anemia hipoblastica, sideroblastica, megaloblastica, anemia hemolítica crónica y leucemia aguda. Cooper y colaboradores demostraron el aumento de I e i empleando eritrocitos de 13 de 15 pacientes con anemia sideroblastica y 7 de 8 pacientes con anemia megaloblastica, pero no en 8 pacientes con anemia por deficiencia de hierro. Eso no fue en relación general con el tipo de anemia y el incremento por anti-i.

Se realizó la expresión del antígeno i aunque fue la inmadurez de su doble membrana que permitió en un corto tiempo el rápido tránsito de los eritrocitos al hígado. Hillman y Giblett hicieron que esta propuesta contará para la aparición de i en pacientes con eritrocitos con hemocromatosis. Los pacientes con padecimientos en hígado han empleado el hierro almacenado pero además resultaron con anemia. El aumento de la actividad de i fue asociada con los eritrocitos recién lanzados al torrente circulatorio por el hígado. Está no fue la

explicación ofrecida por Cooper y cols., quienes preferían la explicación de que el incremento del antígeno I e i está en función del desorden de la eritropoyesis.

Maniatis y cols., estudiaron la aglutinabilidad de los eritrocitos de adultos normales, con eritrocitos de pacientes con anemia y con rasgos. Los eritrocitos de los pacientes con anemia (SS homocigoto) demostró tener un aumento significativo nivelado para la actividad de ambos antígenos I e i; células de heterocigotos (AS) algo de incremento cuando se compara con los controles normales. No hay evidencia que soporte la relación del antígeno i con el contenido encontrado en HbF. Esta observación fue consistente con expectativas basadas en experiencias previas.

La expresión antigénica se ve muy reducida (muy aumentada) reportada por algunos autores. McGiniss y colaboradores. Observaron la depresión del antígeno de expresión I en 22 de 73 pacientes con leucemia. Algunos de esos pacientes recuperaron la expresión del antígeno I durante la remisión. McGiniss no comentaron acerca de un disturbio de antígenos de ABH pero, pero en la opinión en relación bioquímica de ABH a I i, podría no ser sorprendente lo observado por una pérdida recíproca de la expresión antigénica. Jenkins y colaboradores además reportaron la depresión del antígeno I en pacientes con leucemia. En este caso fue asociada con la debilidad de la expresión del antígeno A. Se fortalece la suposición de la actividad de i Jenkins y colaboradores mostraron la relación li fue sostenida. La depresión antigénica de I sin embargo no fue confirmada por Ducos y colaboradores en un estudio de 56 pacientes con leucemia.

Esto ha sido propuesto por el desorden de la eritropoyesis resultado de alteraciones en la membrana las cuales conducen a un incremento en la aglutinación por anti-I y anti-i. HEMPAS (Eritroblastosis hereditaria multinuclear con una prueba ácido positiva en suero) es una condición de eritropoyesis aceptada con anomalías en la membrana del eritrocito e incremento de la expresión de i. HEMPAS es inherente a un como un carácter autonómico recesivo. Esta enfermedad es caracterizada por varios grados de anemia, con transfusiones regulares necesarias en muchos de los casos severos. Crookston que los eritrocitos con los pacientes con HEMPAS son muy ricos en antígeno I de acuerdo con las células y fueron inusualmente a la lisis con ambos anti-I y anti-i. En un caso remarcado citado por Crookston y Crookston, un diagnóstico de HEMPAS fue hecho cuando un hombre joven desarrolló anemia debido a la lisis de sus eritrocitos por anti-i formados durante la infección por mononucleosis. Desde HEMPAS heterocigoto unido al doble tanto anti-i como células normales, la carencia de anemia en heterocigotos obligados juega un rol en el estrese hepático como una explicación amplia del incremento de i en las enfermedades eritropoyéticas.

El cierre genético relacionado aparece por la existencia en Asia entre el fenotipo en adultos y carácter congénito. 17 de 18 japoneses con el fenotipo i, de 10 diferentes familias, fueron encontrados que tenían caracteres congénitos. Otras 45 miembros de familia fueron encuestados; todos fueron I positivo, 9 tienen características. Entre chinos en Taiwan la frecuencia del fenotipo i. en individuos es alrededor de 5%, sin embargo no cada caso fue reportado en seis caucásicos en Nueva York con el fenotipo i. Yamaguchi y colaboradores propusieron que estos casos fueran explicados por separado e independientemente li y características alternativas por un efecto pleiotropico para el gen i. El no encontrar características en los 6 neoyorkinos al parecer muestra nuevamente un efecto pleiotropico.

La estructura antigénica de I e i no limita a los eritrocitos. Lalezari y Murphy demostraron la aglutinación de los linfocitos por anti-I, y anti-i.^{32, 34}

A diferencia de los eritrocitos, los linfocitos retienen la expresión del antígeno i hasta la vida adulta. Esto es verdadero para ambos linfocitos B y T. En contraste, los linfocitos de pacientes con leucemia linfocítica crónica tienen menos antígeno i que en los controles normales.⁴⁰

3.8.10.3 Incidencia de los antígenos (adultos) ³²

| ANTÍGENO | FRECUENCIA |
|----------|------------|
| I | 100 % |
| i | RARO |

3.8.10.4 Datos serológicos

Los antígenos I, i, han sido detectado en la saliva, leche, plasma, líquido amniótico, orina y líquido de quistes ováricos y están ampliamente distribuidos en los tejidos y las células incluyendo linfocitos, monocitos, granulocitos y plaquetas. La leche humana se ha empleado para inhibir anti-I. Los antígenos I e i son realizados por las enzimas y no son destruidos por 2-MF. (Mercaptoetanol) o cloroquina difosfato.

Anti-I y anti-i reaccionan mejor a temperatura ambiente (TA) o temperaturas inferiores. Ejemplos de importancia clínica o fuertes pueden reaccionar a 37° C y AGH. La mayoría de los anticuerpos son Ig M, algunos Ig G, y pueden fijar el complemento. Algunos son hemolíticos in-vitro. La expresión de I e i está relacionada inversamente. Los hematíes Lu(a-b-) dominantes tienen Ii e ii. Hematíes Lu(a-b-) ligados al cromosoma X tienen Ii y II. Se han descrito dos tipos de antígeno i: I₁ en blancos, I₂ en negros. En los hematíes I₁ se detecta más i y menos I que en los I₂. el anti-I producido por personas I₁ puede absorberse con hematíes I₂ pero no I₁.^{34,40}

3.8.10.5 Datos clínicos

La mayoría de las personas tienen anti I detectable en el suero a 4° C. el autoanti-I patológico asociado con anemias hemolíticas crónicas es generalmente Ig M monoclonal con cadenas ligeras kappa. Anticuerpos IgM policlonales transitorios (cadenas ligeras normales kappa y lambda) se asocian con casos agudos durante infecciones. El significado clínico de estos anticuerpos puede determinarse evaluando el título salino a 4° C y reactividad en albúmina a 30° C-37° C.

El título puede ser >1000; sin embargo la amplitud térmica es más crítica. La reactividad a 30° C o temperaturas superiores sugiere la presencia de anemia hemolítica. Aloanti-I se detecta frecuentemente en el suero de adultos de fenotipo i. Los anticuerpos son generalmente IgM y no son activos a 37° C. Aloanti-I ha sido la causa de incremento en la destrucción de hematíes transfundidos, pero no está asociado con EHRN. Ejemplos 1gG de autoanti-i pueden cruzar la placenta y ser la causa de una PAD positiva y de ictericia neonatal. No se ha descrito aloanti-i.³²

3.8.10.6 Datos bioquímicos.

Los antígenos Ii están formados por los mismos oligosacáridos que sirven de base para la formación de los antígenos del sistema ABO. Se encuentran asociados a la membrana del eritrocito, con glicoproteínas y glicoesfingolípidos. Sus determinantes en los eritrocitos se detentan en tres clases de moléculas: N-ligados oligosacáridos de glicoproteínas, glicolípidos simples y glicolípidos complejos. Los antígenos I e i se encuentran en cadenas Tipo 2 BgalBI-4Glc Nac. El antígeno I expresa la estructura ramificada, el antígeno i la estructura lineal. El antígeno i es sintetizado por la acción de la B-3-N-acetilglucosaminiltransferasa y B-4-N-galactosiltransferasa. El antígeno I se transforma en la estructura I por acción de la enzima B-6-N acetilgluco-aminiltransferasa.^{32, 35, 40}

3.9 La frecuencia y especificidad de los anticuerpos reportada por Linares de 90 casos se pueden observar en los siguientes cuadros.^{15, 16}

Presencia de anticuerpos irregulares en el suero de pacientes AHAI en una serie de 90 casos.

| | |
|---|-------|
| -Sin anticuerpos irregulares | 34.5% |
| -Auto anticuerpos | 40.0% |
| -Solo | 33.3% |
| -Asociado a anticuerpos calientes o frios | 66.6% |
| -Alo anticuerpos solos | 25.5% |

Especificidad de los anticuerpos séricos encontrados en los 90 casos de AHAI

| ESPECIFICIDAD | FRECUENCIA % |
|----------------------|-------------------------|
| Anti-I* | 52.0 |
| Anti-H* | 10.4 |
| Anti-E | 13.5 |
| Anti-M* | 2.7 |
| Anti-C | 2.7 |
| Anti-c | 5.4 |
| Anti-e | 2.6 |
| Anti-D | 2.6 |
| Anti-DC | 8.1 |

Anticuerpos fríos, sin importancia clínica *

4.-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

El laboratorio del BCS del CMN S. XXI no contaba con datos de frecuencia de anticuerpos (autoanticuerpos y/o aloanticuerpos, causantes potenciales de hemólisis) en la población con diagnóstico de AHAI que acude a este servicio, por lo que se realizó la determinación de dicha frecuencia en un período de Enero del 2002 a Junio del 2004.

5.-OBJETIVOS:

5.1 Se determinó la frecuencia y especificidad de los autoanticuerpos antieritrocitarios en pacientes del BCS del CMN S. XXI, con anemia hemolítica.

5.2 Conocer la frecuencia y especificidad de los aloanticuerpos antieritrocitarios en pacientes transfundidos, y/o multigestas del BCS del CMN S. XXI., que presentaron reacción transfusional

6.-HIPÓTESIS:

La frecuencia de autoanticuerpos (AHAI) es mayor que la frecuencia de aloanticuerpos por transfusión (sensibilización) en los pacientes que acuden del BCS del CMN S.XXI.

7.-DISEÑO EXPERIMENTAL:

7.1 Tipo de estudio.

El estudio estuvo constituido por una parte prospectiva y otra retrospectiva; ya que por el tipo de población se dificulta la obtención de las muestras y por lo tanto se revisaron expedientes a partir de Enero del 2002 realizando la parte práctica desde Octubre del 2003 a Junio del 2004 para tener una cantidad de muestra más representativa.

7.2 Población de estudio.

Todas las muestras de pacientes transfundidos con concentrado eritrocitario, que se recibieron en el laboratorio de inmunohematología y que cumplieron con los criterios de inclusión, al BCS CMN S. XXI durante el periodo que comprendió el estudio de Enero-2002 a Junio del 2004.

7.3 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.

Inclusión.

Se incluyeron en el estudio pacientes de cualquier edad, ambos sexos, que cumplieran por lo menos con uno de los siguientes criterios:

- Pacientes politransfundidos, con problemas de incompatibilidad
- Pacientes con Coombs Directo positivo y/o negativo, pero con autotestigo positivo
- Mujeres con uno ó más embarazos con hijos que presenten enfermedad hemolítica del recién nacidos
- Pacientes en los que se sospecha de anemia hemolítica autoinmune
- Pacientes mestizos-mexicanos referidos así en la historia clínica.

Exclusión.

Se excluyeron en el estudio a los pacientes en los que la toma de muestra ponía en riesgo su vida o pacientes que se encontraban en tratamiento con antibióticos (vía oral y/o intravenosa), que tengan CD positivo y eluído negativo.

- Pacientes que no tenían referido su origen étnico en el expediente clínico (población mestizo-mexicana).

Eliminación.

Se eliminaron las muestras de los pacientes que presentaron contaminación de muestras sanguíneas o que tuvieron volumen insuficiente.

7.4.-VARIABLES.

Especificación de Variables.

7.4.1 Variable Dependiente: Anemia hemolítica Inmune

7.4.2 Variable Independiente: Tipo de anticuerpo

7.5.-MATERIALES.

Recursos materiales.

7.5.1 Material de vidrio.

Tubos de vidrio, al vacío, estériles, sin anticoagulante, 13 x 100 mm (Vacutainer)

Tubos de vidrio, con EDTA, estériles, 12 x 75 mm (Vacutainer)

Tubos de vidrio, reciclables, 13 x 100 mm

Tubos de vidrio, reciclables, 12 x 75 mm

Tubos de vidrio, reciclables, 10 x 75 mm

Frascos estériles con gotero para las células

Matraz Erlenmeyer 500 mL (Pyrex)

Embudo de vidrio (Pyrex)

Probeta 100 mL (Pyrex)

Pipetas Pasteur (Corning incorporated)

7.5.2 Equipo.

Puntas de plástico para 500 µL

Pipetas automáticas de 500 µL

Centrifugas de Clay Adams automáticas

Centrífugas lavadoras (Sorvall instruments cell washer 2)

Centrífuga separadoras para tubos de 13 x 100 mm (BGH roto uni)

Refrigeradores y congeladores para guardar las muestras (Tyler, Toledo)

Baños de agua a temperatura constante 37° C, 22° C (Liquittherm FT clinicon Mannheim GMBH).

Gradillas de metal, plastificadas

Autoclave

Bulbos para las pipetas Pasteur

Pisetas de plástico de 250 mL

Reloj con cronómetro

7.5.3 Reactivos.

Antisueros Tipificadores Humanos y Monoclonales

-Anti-A, (Trans-clone, Biorad), Anti-B (gamma-clone, Gamma Biologicals), Anti-AB (gamma-clone, Gamma Biologicals), Anti-D (Lafon), Control de Rh (Lafon)

-Anti- Ig G Monoespecífico (Gamma-clone, Inmucor)

-Anti- Ig G poliespecífico (Interbiol)

-Anti-C3 y Anti-C4 (Biotest)

Antisueros para Fenotipo: C, c, D, E, e, M, N, S, s, P1, Lea, Leb, Fya, Fyb, K, k, Jka, JKb, Dia, (Principalmente)

Células fenotipadas para ABO y Rh (A1, A2, B, O, Rh+ y Rh-) (elaborado en BCS del CMN S. XXI de la población mestizo-mexicana).

Eritrocitos sensibilizados y no sensibilizados (elaborados en BCS del CMN S. XXI)

Células de panel de fenotipo conocido de población mestizo-mexicana (elaborado en BCS del CMN S. XXI) y de población sajona (Comercial)

Solución salina isotónica estéril (A temperatura de laboratorio y a 6° C) (Pisa)

Solución Alsever

Ega - Kit: Despega Ig G del eritrocito (gamma- Biologicals)

Mezcla de Tricloroetileno- Cloroformo 1:1

7.5.4 Material de apoyo.

Recipientes de desecho para material biológico

Gasas

Guantes de látex

Papel membretado para anticuerpos

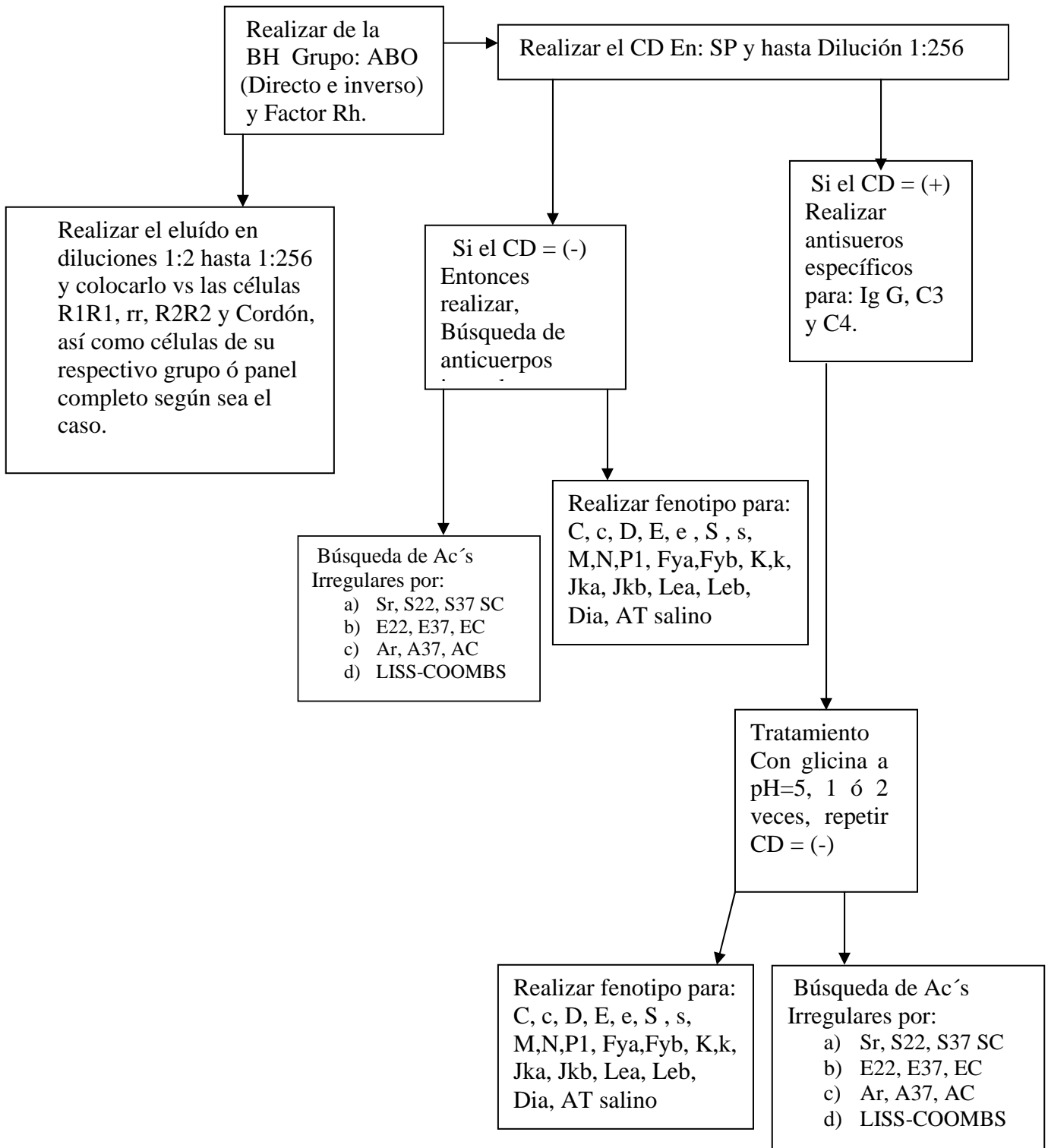
Papel para reporte

Sillas y mesas de trabajo

Computadora y sus anexos de impresión

Cajas de cartón para guardar material vidrio

7.6 Diagrama general.



7.7.- MÉTODOS.

7.7.1 Determinación del grupo sanguíneo directo e inverso.

En la membrana del eritrocito se encuentran una gran cantidad de antígenos de grupos sanguíneos, pertenecientes a varios sistemas.

La determinación de la presencia o ausencia de los antígenos A y/o B del sistema de grupos sanguíneos ABO, es imprescindible.

La identificación correcta de la sangre debe constar de: La clasificación de antígenos eritrocitarios con anticuerpos conocidos (anti- A, anti- AB y anti-B), y la clasificación de los anticuerpos séricos con antígenos conocidos, (eritrocitos A1, A2, B y O)²⁸

Los resultados de Aglutinación se reportan de acuerdo a la puntuación de Marsh (SCORE MARSH): Que consiste en asignar valores numéricos (scores) a las reacciones de aglutinación observadas, con la finalidad de lograr uniformidad y reproducibilidad de los resultados.

Además, en una titulación, el score da una información adicional sobre la potencia de un anticuerpo determinado (dos anticuerpos pueden tener igual título, pero uno presentar un score mucho mayor que el otro). La reactividad en un tubo, y su consiguiente valoración numérica, deberán ser evaluadas recién cuando los eritrocitos hayan sido completamente resuspendidos a partir del botón globular.

El score de Marsh simplificado otorga los siguientes puntajes a las reacciones de aglutinación^{41,42}

Score Marsh²⁰

| LECTURA | AGLUTINACIÓN | PUNTOS |
|---------|---|--------|
| ++++ | Total en un solo cúmulo grande | 12 |
| +++ | Grandes conglomerados con pocos eritrocitos libres | 10 |
| ++ | Gran cantidad de conglomerados pequeños con número moderado de eritrocitos libres | 08 |
| + | Conglomerados definidos pero finos (cúmulos de 20 eritrocitos o menos). | 05 |
| +/- | Eritrocitos dispersos que pueden contener ocasionalmente algún conglomerado pequeño | 02 |
| - | Los eritrocitos se mueven libremente. No hay conglomerados visibles. | 0 |

7.7.1.1 Prueba directa

.

-Colocar 6 tubos de 10 x 75 mm marcados como:

Anti - A, anti-AB, Anti-B y AT (testigo)

Anti - D y CRh (testigo)

-Adicionar 1 gota de suspensión de eritrocitos previamente lavados (3 veces) y a una concentración del 3-5 %.

-Homogenizar y centrifugar a 3000 rpm por 30 S.

-Anotar las lecturas por cruces con tubo en mano en el formato adecuado.

-Interpretar el grupo sanguíneo correspondiente al sistema ABO y su factor Rh/ Hr.

Determinación del grupo sanguíneo (Directo) ^{1,42}

| GRUPO | ANTI-A | ANTI-AB | ANTIB | ANTI-D | At |
|--------|--------|---------|-------|--------|-----|
| A +/- | + | + | - | +/- | +/- |
| B +/- | - | + | + | +/- | +/- |
| O +/- | - | - | - | +/- | +/- |
| AB +/- | + | + | + | +/- | +/- |

+/- Según, si hay o no aglutinación.

At Autotestigo

7.7.1.2 Prueba inversa.

-Colocar 5 tubos de 10 x 75 mm marcados como: A1, A2, B y O.

-Adicionales 2 gotas del suero del grupo a determinar y una gota de células conocidas (A1, A2, B y O). El tubo #5 marcarlo como AT (eritrocitos lavados y empleados en el grupo directo y 2 gotas del suero en estudio).

-Homogenizar y centrifugar a 3000 rpm por 30 S.

-Leer tubo en mano y anotar por intensidad de cruces.

-Interpretar el grupo correspondiente a la prueba inversa.

Determinación del grupo sanguíneo (Inverso) ^{41,42}

| GRUPO | A1 | A2 | B | O | AT |
|-------|----|----|---|---|-----|
| A1 | - | - | + | - | +/- |
| AB | - | - | - | - | +/- |
| B | + | + | - | - | +/- |
| O | + | + | + | - | +/- |

+/- Según, si hay o no aglutinación.

7.7.2 Prueba de antiglobulina humana.

Prueba de Coombs:

En 1945, Coombs, Mourant, and Race. Describen un procedimiento para detectar anticuerpos que no producen aglutinación.

El anticuerpo o complemento adsorbido en los eritrocitos, se detecta mediante el uso de anticuerpos contra globulinas de suero humano (AGH). Los reactivos AGH se producen en animales o en cultivo de tejidos, utilizando las técnicas de anticuerpo monoclonal. Estos reactivos pueden ser poliespecíficos (mezcla de anticuerpos contra Ig G, complemento y cadenas pesadas y ligeras) o monoespecíficos (anticuerpos contra alguna inmunoglobulina específica o componentes del complemento). La prueba directa de antiglobulina humana detecta anticuerpo o complemento que recubre la superficie de los eritrocitos, (in vivo). Mientras que la prueba indirecta de antiglobulina demuestra la presencia de anticuerpo en el suero (in vitro).

Para llevar a cabo la PAD (Prueba de antiglobulina directa), lavar los eritrocitos con solución salina con objeto de eliminar el anticuerpo o complemento no unido, y después se incuban con anticuerpos contra globulinas del suero humano. Si está presente el anticuerpo contra los eritrocitos, la porción Fab del AGH se une a la porción Fc del anticuerpo unido al eritrocito. La formación de puentes de moléculas AGH Fab entre eritrocitos, ocasiona aglutinación detectable a simple vista. Una prueba positiva requiere un mínimo de 500 anticuerpos por eritrocito a menos que se utilicen métodos más sensibles. La PAD se utiliza en la investigación de la anemia hemolítica autoinmune o inducida por fármacos, enfermedad hemolítica del recién nacido y sospecha de reacciones hemolíticas por transfusión^{43, 44, 45}

-Enumerar los tubos de 10 x 75 mm para una dilución 1:9 numerándolos como sigue:

- Tubo 1: Suero puro (sp)
- Tubo 2: dilución 1:2
- Tubo 3: dilución 1:4
- Tubo 4: dilución 1:8
- Tubo 5: dilución 1:16
- Tubo 6: dilución 1:32
- Tubo 7: dilución 1:64
- Tubo 8: dilución 1:128
- Tubo 9: dilución 1:256

-Marcar de la misma manera 9 tubos de 12x75 mm para preparar las diluciones

-Prepara las diluciones de la siguiente manera (tomar en cuenta el volumen que se va emplear).

-Colocar 500µL de solución salina isotónica 0.9 % del 2 al 9; 500µL de suero de Coombs en uso, homogenizar tomar 500 microlitro de esta suspensión y colocarlos en el tubo 3 y así sucesivamente hasta el tubo 9, eliminar los 500µL sobrantes del tubo 9.

-De la suspensión anterior tomar 2 gotas y colocarlas en los tubos marcados respectivamente adicionar 1 gota de la suspensión del 3-5% de eritrocitos preparados para grupo y Rh de la BH homogenizados previamente.

-Agregar al tubo 1; gotas de antisuero de Coombs en uso adicionar 1 gota de la suspensión de eritrocitos.

-Centrifugar a 3000 rpm por 30 S. Leer tubo en mano y anotar las lecturas por aglutinaciones en el formato respectivo.

7.7.2.1 Si PAD (prueba de antiglobulina humana directa) es positiva, realizar la determinación de antisueros específicos (Ig G, C3, y C4)

-Marcar 3 tubos de 10 x 75 mm como sigue:

Tubo 1: Ig G

Tubo 2: C3

Tubo 3: C4

-Colocar 1 gota de cada uno de los antisueros en el tubo correspondiente más una gota de eritrocitos de la suspensión de eritrocitos problema (del paciente), homogenizar.

-Centrifugar a 3000 rpm, por 30 S. Leer tubo en mano y anotar las lecturas correspondientes.

-Reportar los resultados obtenidos.⁴¹

7.7.2.2.- Si es negativo el CD entonces

-Anotar los resultados en el formato correspondiente.

-Realizar la búsqueda de anticuerpos irregulares.⁴¹

7.7.3 Búsqueda de anticuerpos irregulares

Se les llama anticuerpos irregulares porque en contraste con los anticuerpos del sistema ABO que se encuentran regularmente (esperados) en todos los individuos sanos, estos anticuerpos sólo se encuentran en algunos (inesperados). A aquellos llamados irregulares naturales como el Anti-Lea, Anti-P1, Anti-M, etc., no están relacionados ni con transfusiones ni con embarazos, contrariamente a los llamados irregulares inmunes, que sí lo están como el Anti-D, Anti-C, Anti-Fy, etc.⁴¹

7.7.3.1 Búsqueda de anticuerpos: (Técnica salina).

1.- Enumerar los tubos de 13 x 100 mm que se emplearán (de acuerdo al panel)

2.- Agregar una gota de eritrocitos del panel más dos gotas del suero problema

- 3.- Homogenizar, centrifugar a 3000 rpm por 30 S.
- 4.- Leer con tubo en mano, anotar resultados de aglutinación por tubo.
- 5.- Incubar los tubos a 22° C por 30 min; posteriormente centrifugar a 3000 rpm por 30 S. y leer tubo en mano, anotar los resultados.
- 6.- Homogenizar incubar nuevamente dichos tubos a 37° C por 1 hora centrifugar a 3000 rpm por 30 seg leer y anotar los resultados.
- 7.- Realizar tres lavados con solución salina y agregar suero de Coombs poliespecífico a menos que se indique otra cosa.
- 8.- Realizar la interpretación de los resultados comparando con la tabla del panel empleado (mestizo-mexicano) BCS CMN S XXI y/ó Panel Comercial Gamma-Biologicals.
- 9.- Realizar el consumo de coombs a los tubos negativos.

7.7.3.2 Búsqueda de anticuerpos: Técnica con albúmina

La albúmina dispersa algunas de las cargas positivas situadas alrededor de los hematíes. Por tanto, habrá menos cationes rodeando a los eritrocitos y el potencial zeta disminuirá ^{5, 20, 30}

- 1.- Enumerar los tubos de 13 x 100mm que se emplearan (de acuerdo al panel)
- 2.- Agregar una gota de eritrocitos del panel más dos gotas del suero problema
- 3.- Adicionar dos gotas de albúmina al 22 %, homogenizar a 3000 rpm por 30 S.
- 4.- Leer con tubo en mano, anotar resultados de aglutinación por tubo.
- 5.- Incubar nuevamente dichos tubos a 37° C por 1 hora centrifugar a 3000 rpm por 30 S.
Leer y anotar los resultados.
- 6.- Realizar cuatro lavados con solución salina y agregar suero de Coombs poliespecífico a menos que se indique otra cosa.
- 7.- Realizar la interpretación de los resultados comparando con la tabla del panel empleado (mestizo-mexicano) BCS CMN S XXI y/ó Panel Comercial Gamma-Biologicals.
- 8.- Realizar el consumo de coombs a los tubos negativos.

7.7.3.3 Técnicas enzimáticas

Las enzimas proteolíticas modifican los antígenos de la membrana eritrocitaria de forma que aumentan la reactividad de algunos sistemas antígeno-anticuerpo (Especialmente Rh, Kidd, y producen abolición de las configuraciones antigénicas de otros (especialmente M, N, Fya, Fyb). La modificación enzimática también altera las propiedades físicas de la suspensión celular y puede producir agregación espontánea de eritrocitos en un sistema inmunológicamente inerte^{41,46}

7.7.3.4 Búsqueda de anticuerpos: Técnica de bromelina (una fase)

- 1.- Enumerar los tubos de 13 x 100mm que se emplearan (de acuerdo al panel)
- 2.- Agregar una gota de eritrocitos del panel más dos gotas del suero problema más una gota de Bromelina.
- 3.- Incubar a 22° C, 10 minutos, centrifugar a 3000 rpm por 30 S.
- 4.- Leer tubo en mano (anotar lecturas por cruces)
- 5.- Incubar a 37° C, 15 minutos
- 6.- Centrifugar a 3000 rpm por 30 seg
- 7.- Leer tubo en mano (anotar lecturas por cruces)
- 8.- Lavar tres veces y agregar 2 gotas de Antisuero de Coombs
- 9.- Centrifugar a 3000 rpm por 30 seg
- 10.-Leer tubo en mano (anotar lecturas por cruces)
- 11.-Realizar el Consumo de Coombs a los tubos negativos.^{41, 6}

7.7.3.5 Búsqueda de anticuerpos: Técnica de bromelina (dos fases)

- 1.- Enumerar los tubos de 13 x 100mm que se emplearan (de acuerdo al panel)
- 2.- Agregar una gota de eritrocitos (células del panel) más una gota de reactivo de bromelina
- 3.- Incubar a 37° C 5 min.
- 4.- Realizar tres lavados a 3000 rpm por 4 min
- 5.- Adicionar dos gotas de suero problema
- 6.- Incubar nuevamente a 37° C por 15 min.

- 7.- Centrifugar a 3000rpm por 30 S.
- 8.- Leer tubo en mano (anotar lecturas por cruces)
- 9.- Lavar tres veces a 3000 rpm por 4 min
- 10.-Adicionar dos gotas de Antisuero de Coombs (poliespecífico)
- 11.-Centrifugar nuevamente a3000 rpm por 30 S.
- 12.-Leer tubo en mano (anotar lecturas por cruces)
- 13.-Realizar consumo de Coombs a los tubos negativos.^{41, 46}

7.7.3.6 Búsqueda de anticuerpos: Técnica de LISS (Efecto de baja fuerza iónica)

Disminuyendo la concentración de cationes del medio disminuye la densidad de iones alrededor del eritrocito. Esto aumenta la tasa de sensibilización ^{41, 46}

- 1.- Numerar los tubos 10 x de 75mm del 1 al 10 (de acuerdo al panel que se va a trabajar)
- 2.- Agregar tres gotas de LISS
- 3.- Agregar una gota de los eritrocitos correspondientes (panel)
- 4.- Homogenizar y centrifugar a 3000 rpm por 30 S.
- 5.- Decantar a sequedad,
- 6.- Agregar una gota de LISS, homogenizar, 2 gotas de suero problema y nuevamente dos gotas de LISS homogenizar.
- 7.- Incubar a 37° C 15 minutos
- 8.- Lavar 3 veces con solución salina isotónica a tres cuartas partes de tubo
- 9.- Agregar dos gotas de Suero de Coombs
- 10.-Centrifugar a 3000 rpm por 30 S. Leer con tubo en mano.

7.7.3.7 Determinación del fenotipo

-Si el coombs directo es positivo dar primero uno ó un máximo de 2 tratamientos a las células que se toman de la superficie de la BH con Ega- Kit (glicina a pH=5, para despegar a la Ig G adherida a los eritrocitos).^{41, 46}

- Realizar por lo menos 2 lavados para eliminar hemólisis del tratamiento.

-Realizar un coombs directo y si es negativo proceder a realizar el fenotipo

1.-Homogenizar la BH del paciente tomar 4 gotas y realizar 3 lavados con solución salina en tubos de 12x 75mm

2.-Prerorar una solución del 3 al 5% aproximadamente

3.-Identificar los tubos de 10 x 75mm con la letra de cada fenotipo es decir:

AB, D, CRh, AT salino

C, c, E, e.

S, s, Fy^a, Fy^b, K, k, JK^a, JK^b, Di^a

M, N, P, Le^a, Le^b

4.-Agregar una gota de cada antisuero comercial de acuerdo a su identificación; y una gota de suspensión de eritrocitos (3-5%), homogenizar.

AB, D, CRh, (Realizar salina rápida). Homogenizar, centrifugar a 3000 rpm por 30 S. leer tubo en mano (anotar lecturas por cruces).

C, c, E, e. Incubar a 37° C por 15 min, homogenizar, centrifugar a 3000 rpm por 30 S. leer tubo en mano (anotar lecturas por cruces).

S, s, Fy^a, Fy^b, K, k, JK^a, JK^b, Di^a Homogenizar, incubar a 37° C por 20 min. Lavar 3 veces a 3000 rpm por 1 min cada una y agregar 2 gotas de reactivo de Coombs. Leer tubo en mano (anotar lecturas por cruces).

M, N, P, Le^a, Le^b Dejar los tubos a temperatura de laboratorio por 5 min. Centrifugar a 3000 rpm por 30 S, Leer tubo en mano (anotar las lecturas por cruces).

-Anotar el fenotipo correspondiente.

7.7.3.8 Realización del eluido (Tricloroetileno-Cloroformo)

El objetivo de todas las técnicas de elución es interferir con las fuerzas de enlaces no covalentes que mantienen unidos los complejos antígenos- anticuerpo sobre la superficie de los eritrocitos. La membrana celular puede ser lesionada físicamente por calor, ultrasonido, congelamiento descongelamiento, detergentes o solventes orgánicos; o las fuerzas de unión de los complejos antígeno-anticuerpo pueden ser interrumpidas por alteraciones de pH o concentraciones de sales.

La elución por cloroformo es apropiada para la investigación de una PAD positiva asociada con autoanticuerpos o aloanticuerpos calientes (Ig G). En asociación con las técnicas de adsorción, se puede utilizar para separar mezclas de anticuerpos Ig G contra antígenos eritrocitarios^{29, 41, 46, 47}

-Homogenizar la BH del paciente

-Tomar con una pipeta Pasteur lo más que se pueda del paquete eritrocitario

-Colocar la muestra en un tubo de 13 x 100 mm

-Realizar 5 lavados con solución salina a 6 °C (cada uno a 3000 rpm por 5 min)

- Después del quinto lavado eliminar la mayor cantidad posible de sobrenadante
- Adicionar un volumen igual de solución salina isotónica al paquete eritrocitario y homogenizar
- Agregar un volumen igual a esta suspensión de Tricloroetileno-cloroformo (1:1)
- Colocar un tapón de plástico y además cubrir con papel parafilm
- Realizar movimientos giratorios constantemente e incubar a 37 ° C
- Mantener en ángulo a 45 ° de inclinación dentro del baño maria por 10-15 min
- Hasta observar a contra luz y este sea “rojo vino transparente”
- Centrifugar a 3000 rpm entre 5-10 min
- Se observan tres fases: El eluído (rojo vino), estroma y disolvente.
- Transferir el eluído a un tubo de 12 x 75 mm y centrifugar a 3000 rpm x 5 min más, para eliminar residuos de disolvente
- Decantar en otro tubo de 12 x 75 mm y de hay tomar las muestras para realizar las diluciones correspondientes:

FORMATO CORRESPONDIENTE PARA REGISTRO DEL ELUÍDO

| ELUÍDO | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 | 1:64 | 1:128 | 1:256 | PUNTOS |
|---------------------|-----|-----|-----|------|------|------|-------|-------|--------|
| R1-E/rápido | | | | | | | | | |
| R1-/E22 °C | | | | | | | | | |
| R1-E/37 °C | | | | | | | | | |
| R1-E/Coombs | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| R2-E/rápido | | | | | | | | | |
| R2-/E22 °C | | | | | | | | | |
| R2-E/37 °C | | | | | | | | | |
| R2-E/Coombs | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| r-E/rápido | | | | | | | | | |
| r-/E22 °C | | | | | | | | | |
| r-E/37 °C | | | | | | | | | |
| r-E/Coombs | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| Cordón-E/rápido | | | | | | | | | |
| Cordón-/E22 °C | | | | | | | | | |
| Cordón-E/37 °C | | | | | | | | | |
| Cordón- E/Coombs | | | | | | | | | |

R1, R2, r: Fenotipo de las células según Wiener
 Cordón: Células de cordón de grupo O Rh positivo
 E: Eluído ácido (Tricloroetileno- cloroformo)
 Rápido: Centrifugar inmediatamente
 22 °C: Temperatura de incubación
 37 °C: Temperatura de incubación
 Coombs: Reactivo de Coombs

Esto depende de la cantidad de muestra con que se cuenta; “o” recordar realizar el eluído contra células del grupo respectivo.

7.7.4 DISEÑO ESTADÍSTICO

El número de muestras incluye a todos los pacientes que se reciben en el BCS del CMN S. XXI y cumplieron con los criterios de inclusión, recibidos desde Enero del 2002 hasta Junio del 2004.⁴⁸⁻⁴⁹

7.7.4.1 Análisis estadístico de la información que se obtendra

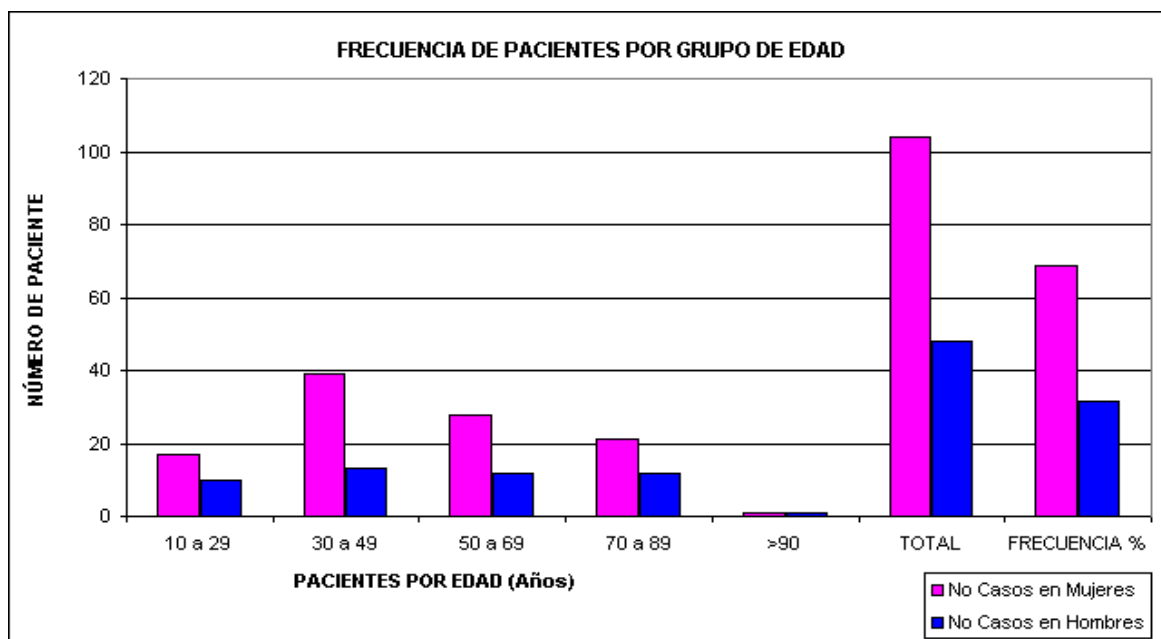
Se determinó la frecuencia de Autoanticuerpos y Aloanticuerpos en pacientes con AHAI y de Aloanticuerpos en pacientes politransfundidos y/o multigesta, los resultados se representan gráficamente.^{48, 49}

8.-RESULTADOS:

En el presente estudio se analizaron 152 muestras que corresponden a pacientes que fueron canalizados al BCS del CMN S XXI en un período de Enero del 2002 a Junio del 2004. Encontrándose los siguientes resultados.

8.1 FRECUENCIA DE PACIENTES POR GRUPO DE EDAD

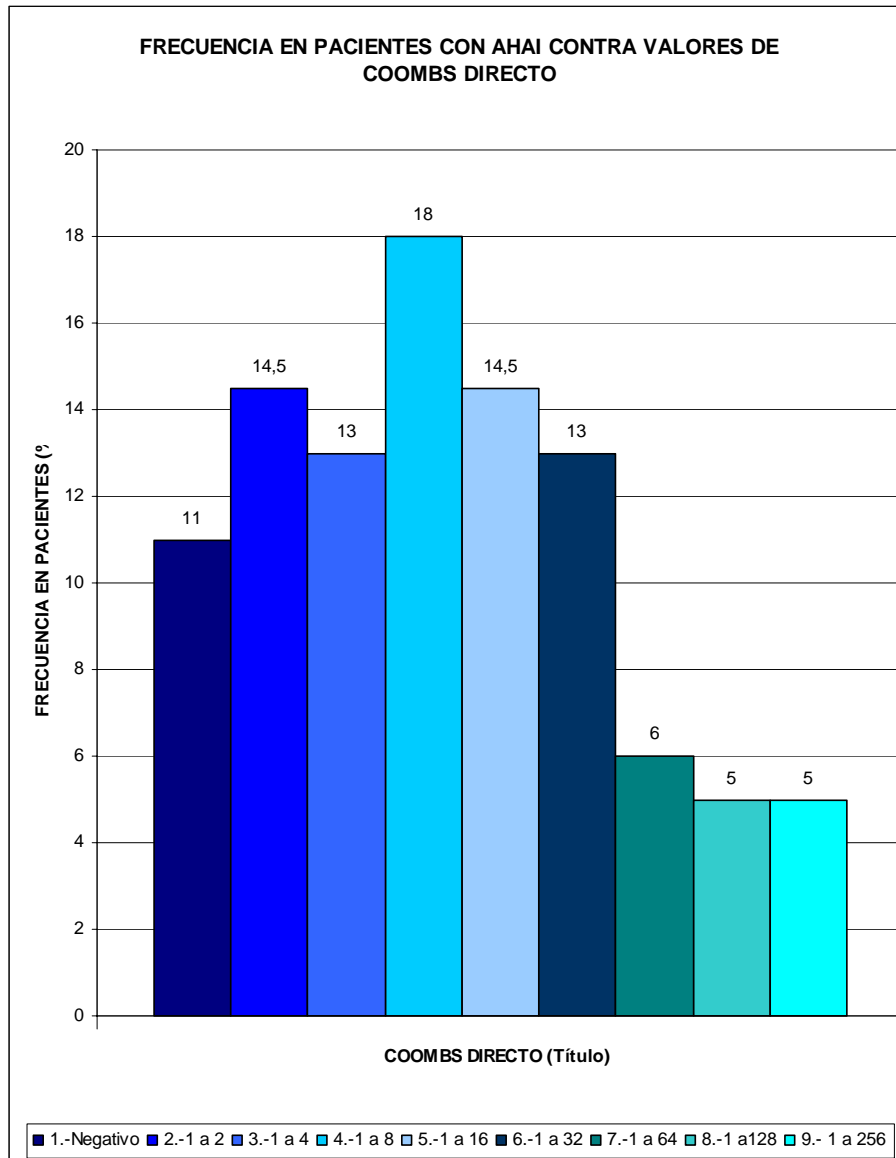
| EDAD (años) | 10 a 29 | 30 a 49 | 50 a 69 | 70 a 89 | >90 | TOTAL | FRECUENCIA % |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----|-------|--------------|
| No Casos en Mujeres | 17 | 39 | 28 | 21 | 1 | 104 | 68,5 |
| No Casos en Hombres | 10 | 13 | 12 | 12 | 1 | 48 | 31,5 |



Gráfica No. 8.1 Los resultados corresponden a lo anticuerpos y autoanticuerpos de la población incluida

8.2 COOMBS DIRECTO DIRECTO: EN PACIENTES CON AHAI

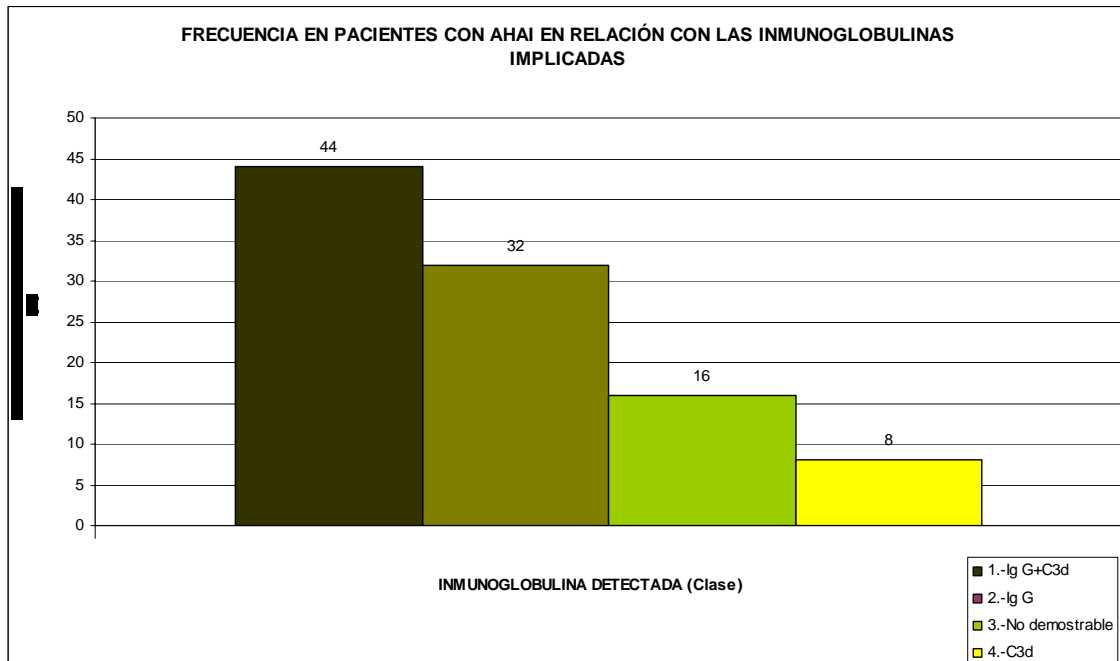
| TÍTULO | NEGATIVO | 1 a 2 | 1 a 4 | 1 a 8 | 1 a 16 | 1 a 32 | 1 a 64 | 1 a 128 | 1 a 256 |
|--------------|----------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|---------|
| FRECUENCIA % | 11 | 14,5 | 13 | 18 | 14,5 | 13 | 6 | 5 | 5 |
| No casos | 7 | 9 | 8 | 11 | 9 | 8 | 4 | 3 | 3 |



Gráfica No. 8.2 Coombs directo en pacientes con Anemia Hemolítica Autoinmune (AHAI)

8.3 CLASE DE INMUNOGLOBULINA DETECTADA

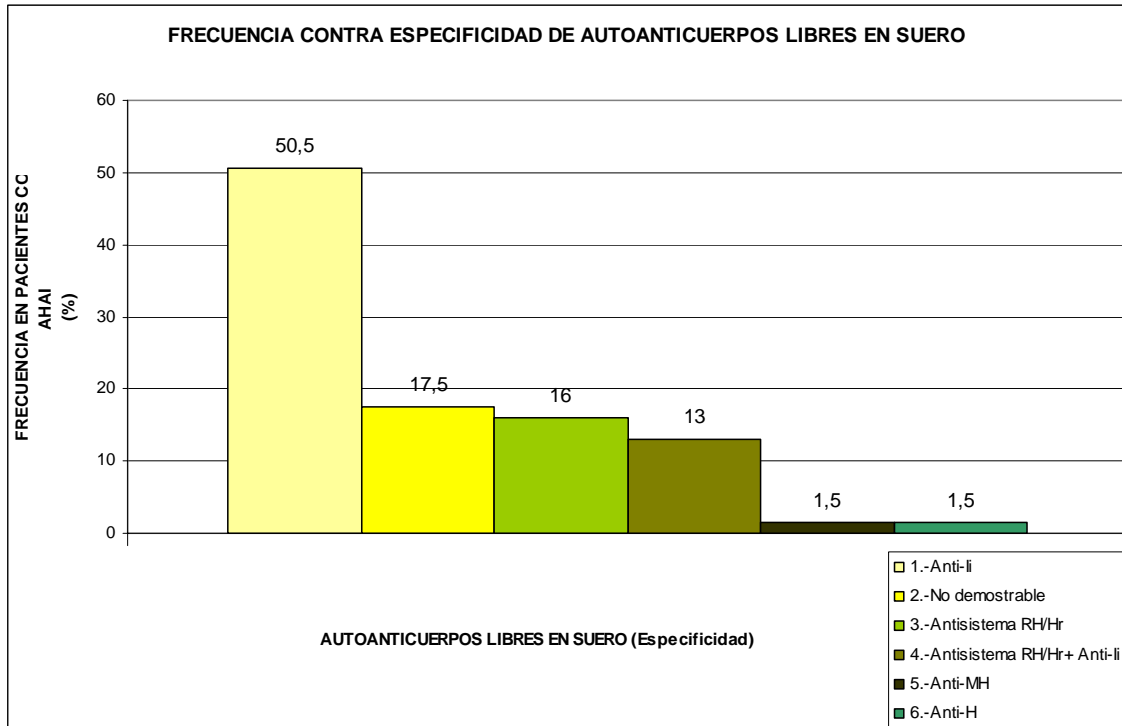
| CLASE DE Ig's | Ig G+C3d | Ig G | No demostrable | C3 |
|---------------|----------|------|----------------|----|
| FRECUENCIA % | 44 | 32 | 16 | 8 |
| No casos | 27 | 20 | 10 | 5 |



Gráfica 8.3 Inmunoglobulinas detectadas en pacientes con AHAI empleando antisueros específicos: Ig G, C3d, si el coombs directo es positivo.

8.4 FRECUENCIA CONTRA ESPECIFICIDAD DE AUTOANTICUERPOS LIBRES

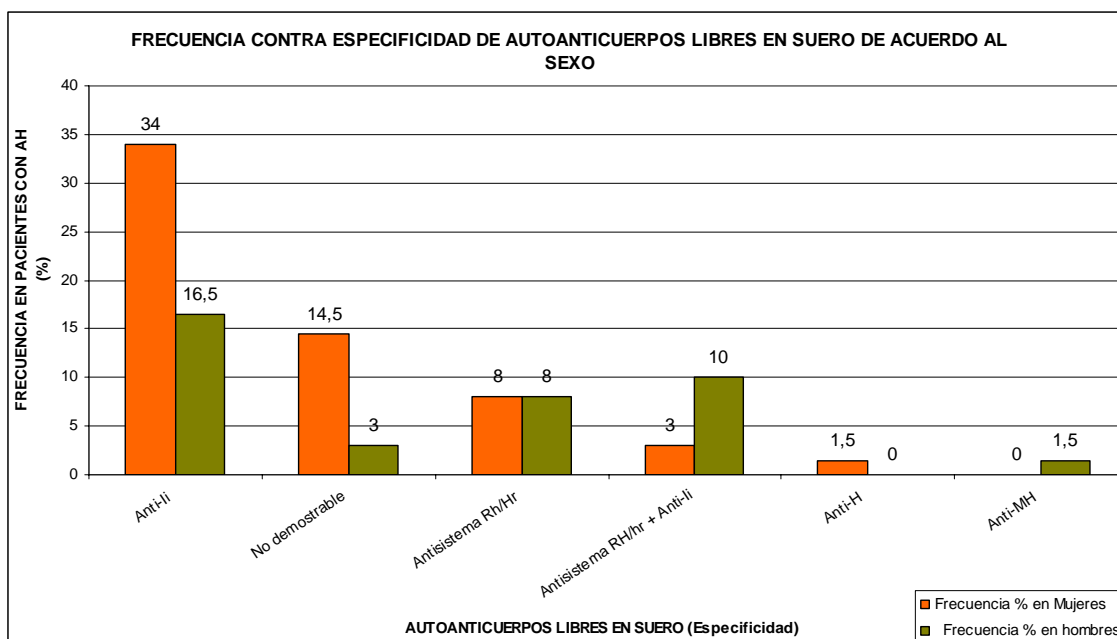
| ESPECIFICIDAD | Ant-li | No demostrable | Anti sistema RH/Hr | Ant-li+Antisistema RH/Hr | Anti-MH | Anti-H |
|---------------|--------|----------------|--------------------|--------------------------|---------|--------|
| FRECUENCIA % | 50,5 | 17,5 | 16 | 13 | 1,5 | 1,5 |
| No casos | 31 | 11 | 10 | 8 | 1 | 1 |



Gráfica 8.4 Frecuencia en pacientes con AHAI y probable especificidad de autoanticuerpos libres en suero. (Para determinar la especificidad de los autoanticuerpos se emplearon al menos dos técnicas: Salina, Albúmina 22%, Bromelina y LISS, esta última se elaboró en el BCS del CMN S.XXI).

8.4.1 FRECUENCIA CONTRA ESPECIFICIDAD DE AUTOANTICUERPOS LIBRES (DE ACUERDO AL SEXO)

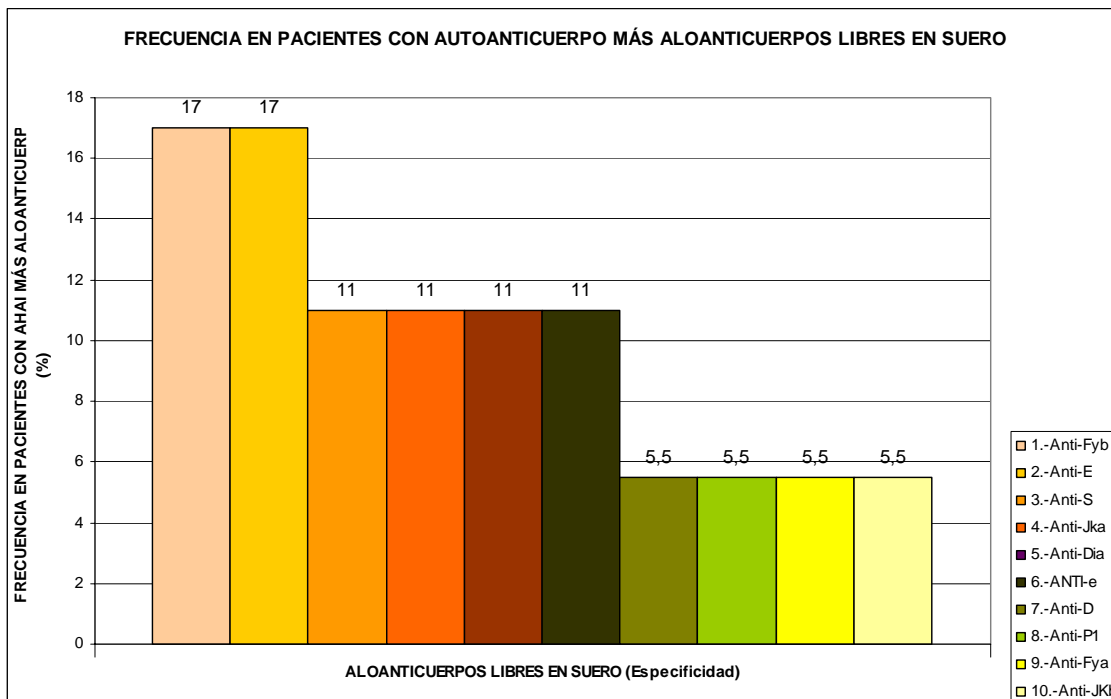
| Especificidad | Anti-li | No demostrable | Antisistema Rh/Hr | Antisistema RH/hr + Anti-li | Anti-H | Anti-MH |
|-------------------------|---------|----------------|-------------------|-----------------------------|--------|---------|
| Frecuencia % en Mujeres | 34 | 14,5 | 8 | 3 | 1,5 | 0 |
| Frecuencia % en hombres | 16,5 | 3 | 8 | 10 | 0 | 1,5 |
| No. de casos en Mujeres | 21 | 9 | 5 | 2 | 1 | 0 |
| No. de casos en hombres | 10 | 2 | 5 | 6 | 0 | 1 |



Gráfica 8.4.1 Frecuencia en pacientes (de acuerdo al sexo) con AHA y probable especificidad de autoanticuerpos libres en suero. (Para determinar la especificidad de los autoanticuerpos se emplearon al menos dos técnicas: Salina, Albúmina 22%, Bromelina y LISS, esta última se elaboró en el BCS del CMN S.XXI).

8.5 FRECUENCIA EN PACIENTES CON AUTOANTICUERPOS (AHAI) MÁS ALOANTICUERPOS LIBRES EN SUERO

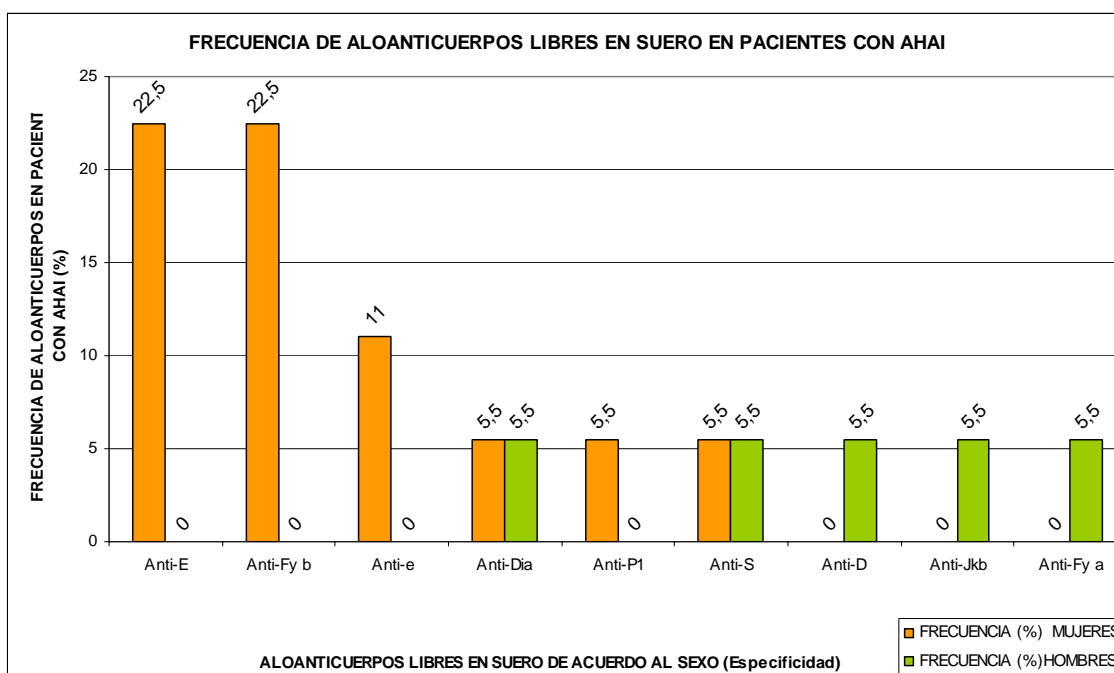
| ESPECIFICIDAD | Anti-Fyb | Anti-E | Anti-S | Anti-Jka | Anti-Dia | Anti-e | Anti-D | Anti-P1 | Anti-Fya | Anti-Jkb |
|---------------|----------|--------|--------|----------|----------|--------|--------|---------|----------|----------|
| FRECUENCIA % | 17 | 17 | 11 | 11 | 11 | 11 | 5,5 | 5,5 | 5,5 | 5,5 |
| No. CASOS | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 |



Gráfica 8.5 Frecuencia en pacientes con autoanticuerpos(AHAI) más aloanticuerpos y la probable especificidad de estos.

8.5.1 FRECUENCIA EN PACIENTES POR SEXO, CON AUTOANTICUERPOS (AHAI) MÁS ALOANTICUERPOS LIBRES EN SUERO

| ESPECIFICIDAD | Anti-E | Anti-Fy b | Anti-e | Anti-Dia | Anti-P1 | Anti-S | Anti-D | Anti-Jkb | Anti-Fy a |
|------------------------|--------|-----------|--------|----------|---------|--------|--------|----------|-----------|
| FRECUENCIA (%) MUJERES | 22,5 | 22,5 | 11 | 5,5 | 5,5 | 5,5 | 0 | 0 | 0 |
| FRECUENCIA (%) HOMBRES | 0 | 0 | 0 | 5,5 | 0 | 5,5 | 5,5 | 5,5 | 5,5 |
| No. Casos Mujeres | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| No. Casos Hombres | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 |

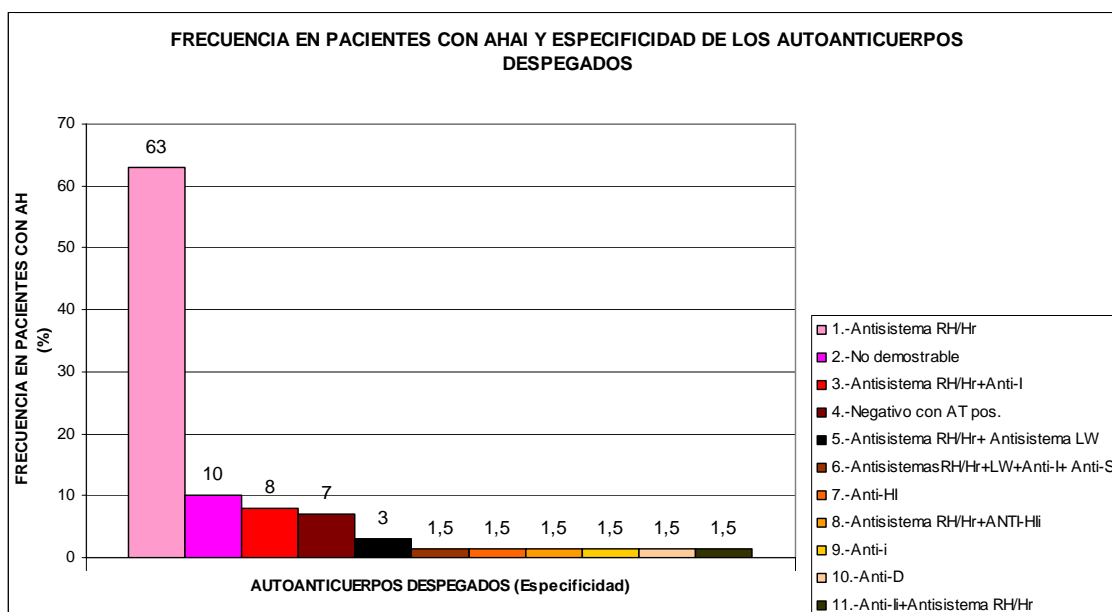


Gráfica 8.5.1 Frecuencia en pacientes con autoanticuerpos (AHAI) más aloanticuerpos y la probable especificidad de estos de acuerdo al sexo.

8.6 ANTICUERPOS EN PACIENTES CON ANEMIA HEMOLÍTICA (Autoanticuerpos despegados)

| ESPECIFICIDAD | Anti sistema Rh/Hr | No demostrable | Antisistema RH/Hr+Anti-I | Negativo con AT pos. | Anti sistema Rh/Hr+Anti sistema LW |
|---------------|--------------------|----------------|--------------------------|----------------------|------------------------------------|
| FRECUENCIA % | 63 | 10 | 8 | 7 | 3 |
| NO. Casos | 39 | 6 | 5 | 4 | 2 |
| ESPECIFICIDAD | | | | | |
| FRECUENCIA % | | | | | |
| NO. Casos | | | | | |

| Anti-HI | Anti sistema RH/Hr+ Anti Hli | Anti-i | Anti-D | Anti-Ii+Anti sistema Rh/Hr |
|---------|------------------------------|--------|--------|----------------------------|
| 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |



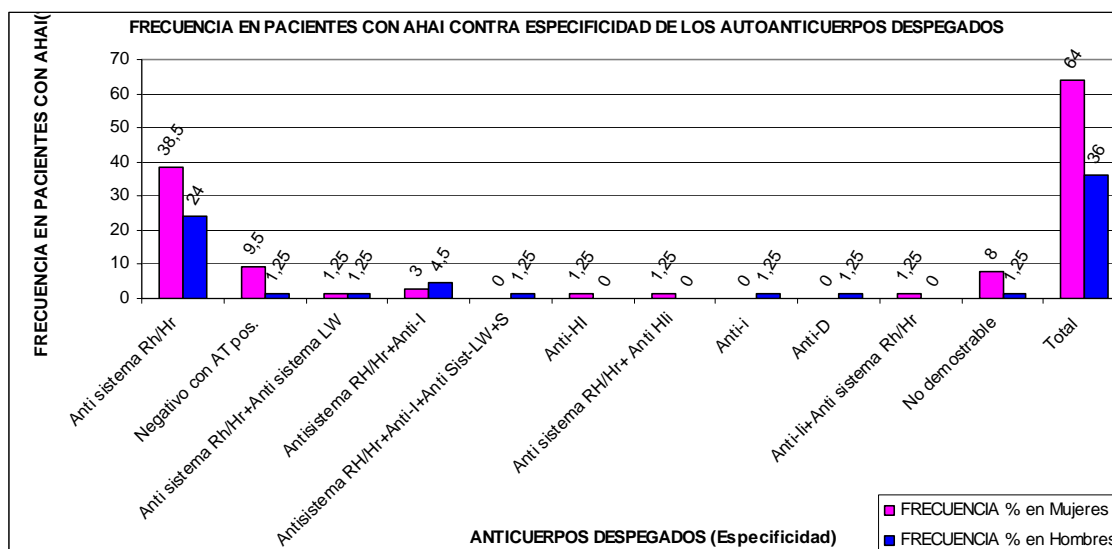
Gráfica 8.6 Autoanticuerpos despegados de la membrana del eritrocito mediante la técnica de elución ácida con tricloroetileno-cloroforno

8.6.1 ANTICUERPOS EN PACIENTES CON ANEMIA HEMOLITICA (Autoanticuerpos despegados, de acuerdo al sexo)

| ESPECIFICIDAD | Anti sistema Rh/Hr | Negativo con AT pos. | Anti sistema Rh/Hr+Anti sistema LW | Antisistema RH/Hr+Anti-I |
|-------------------------|--------------------|----------------------|------------------------------------|--------------------------|
| FRECUENCIA % en Mujeres | 38,5 | 9,5 | 1,25 | 3 |
| FRECUENCIA % en Hombres | 24 | 1,25 | 1,25 | 4,5 |
| NO. Casos en mujeres | 24 | 3 | 1 | 2 |
| NO. Casos en Hombres | 15 | 1 | 1 | 3 |

| ESPECIFICIDAD | Antisistema RH/Hr+Anti-I+Anti Sist-LW+S | Anti-HI | Anti sistema RH/Hr+ Anti Hli |
|-------------------------|---|---------|------------------------------|
| FRECUENCIA % en Mujeres | 0 | 1,25 | 1,25 |
| FRECUENCIA % en Hombres | 1,25 | 0 | 0 |
| NO. Casos en mujeres | 0 | 1 | 1 |
| NO. Casos en Hombres | 1 | 0 | 0 |

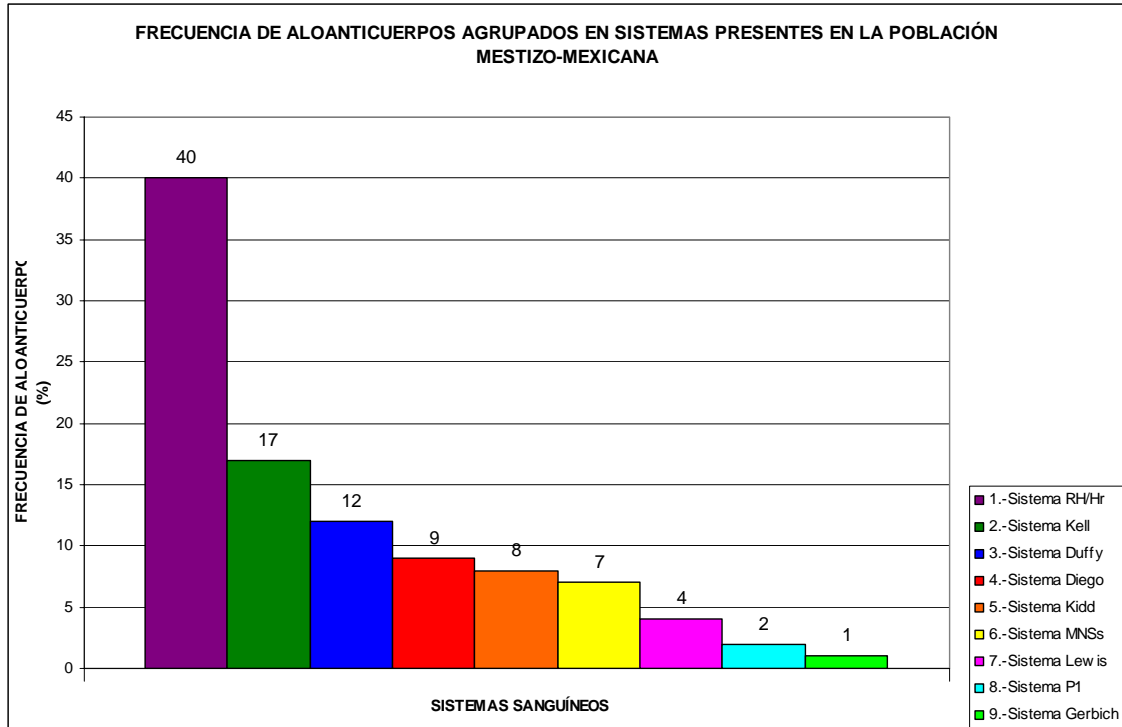
| ESPECIFICIDAD | Anti-i | Anti-D | Anti-li+Anti sistema Rh/Hr | No demostrable | Total |
|-------------------------|--------|--------|----------------------------|----------------|-------|
| FRECUENCIA % en Mujeres | 0 | 0 | 1,25 | 8 | 64 |
| FRECUENCIA % en Hombres | 1,25 | 1,25 | 0 | 1,25 | 36 |
| NO. Casos en mujeres | 0 | 0 | 1 | 5 | 38 |
| NO. Casos en Hombres | 1 | 1 | 0 | 1 | 24 |



Gráfica No. 8.6.1 Frecuencia de autoanticuerpos despegados de la membrana del eritrocito mediante la técnica de elución ácida con tricloroetileno-cloroformo.

8.7 FRECUENCIA DE ALOANTICUERPOS AGRUPADOS EN SISTEMAS PRESENTES EN LA POBLACIÓN MESTIZO- MEXICANA

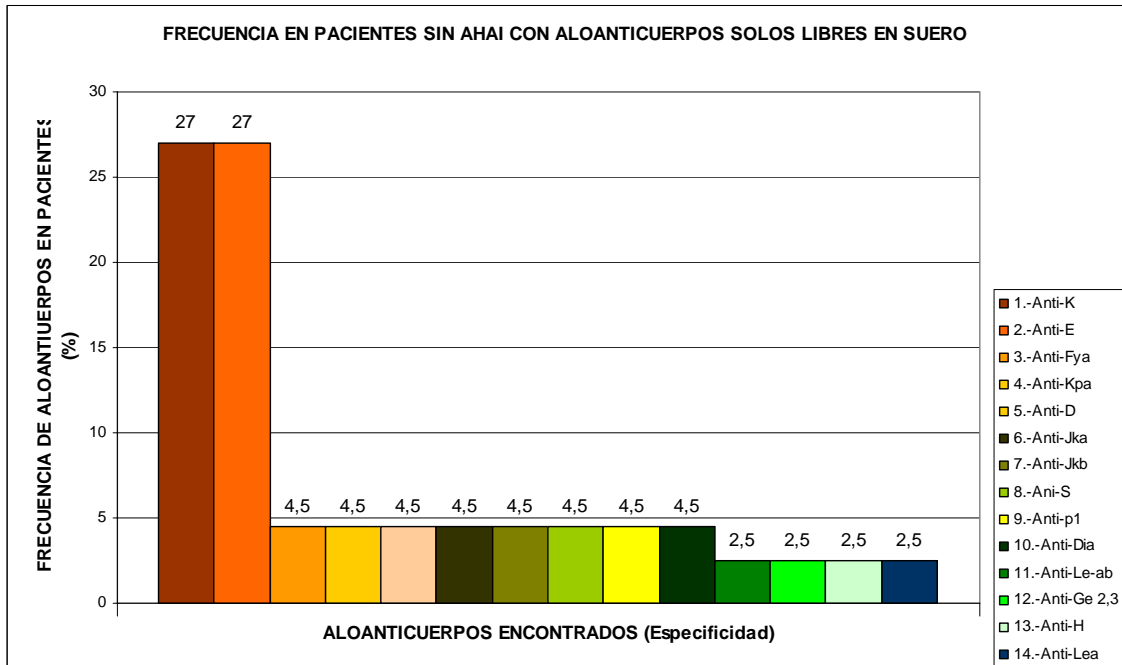
| SISTEMAS | Rh/Hr | Kell | Duffy | Diego | Kidd | MNSs | Lewis | P1 | Gerbich |
|----------------|-------|------|-------|-------|------|------|-------|----|---------|
| FRECUENCIA (%) | 40 | 17 | 12 | 9 | 8 | 7 | 4 | 2 | 1 |



Gráfica 8.7 Frecuencia acumulada de los aloanticuerpos agrupados en sus respectivos sistemas

8.7.1 FRECUENCIA DE PACIENTES ESTUDIADOS CON ALOANTICUERPOS SOLOS

| ALOANTICUERPOS | K | E | Fya | Kpa | D | Jka | Jkb | S | p1 | Dia | Leab | Ge 2,3 | H | Lea |
|----------------|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|--------|-----|-----|
| FRECUENCIA (%) | 27 | 27 | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 |
| No. De casos | 12 | 12 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 |



Gráfica 8.7.1 Frecuencia de los aloanticuerpos solos encontrados libres en pacientes sin AHAI canalizados al BCS del CMN S. XXI de Enero del 2002 a Junio del 2004.

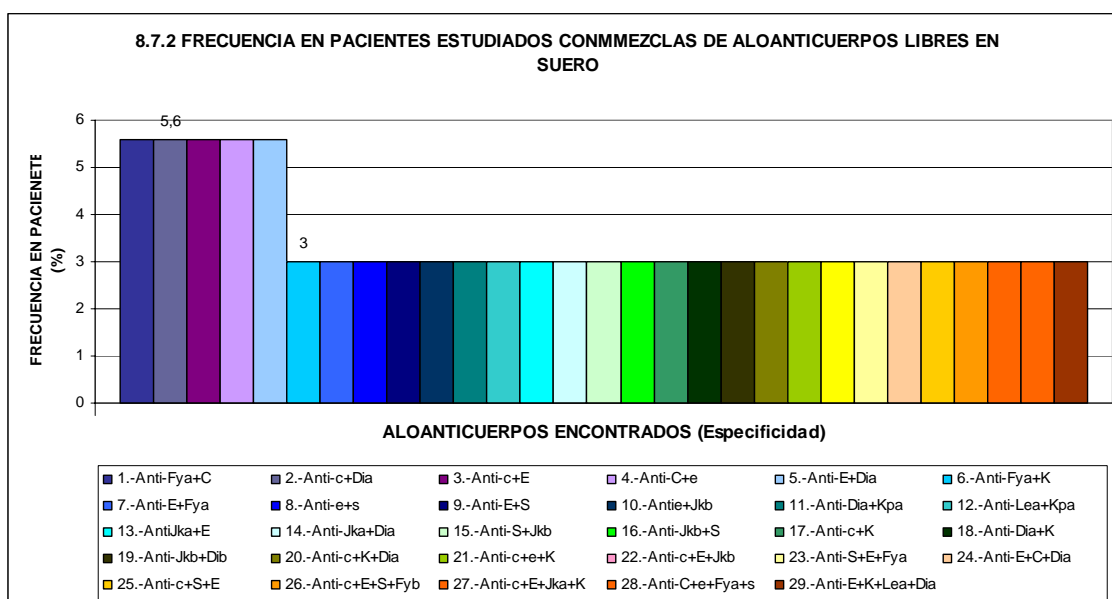
8.7.2 FRECUENCIA EN PACIENTES ESTUDIADOS CON MEZCLAS DE ALOANTICUERPOS LIBRES EN SUERO

| ALOANTICUERPOPOS | Fya+C | c+Dia | c+E | C+e | E+Dia | Fya+K | E+Fya | e+s | E+S | e+Jkb |
|------------------|-------|-------|-----|-----|-------|-------|-------|-----|-----|-------|
| FRECUENCIA (%) | 5,6 | 5,6 | 5,6 | 5,6 | 5,6 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| No. CASOS | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

| ALOANTICUERPOPOS | Dia+Kpa | Lea+Kpa | Jka+E | Jka+Dia | S+Jkb | c+K | Dia+K | Jkb+Dib |
|------------------|---------|---------|-------|---------|-------|-----|-------|---------|
| FRECUENCIA (%) | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| No. CASOS | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

| ALOANTICUERPOPOS | c+K+Dia | c+e+K | c+E+Jkb | S+E+Fya | E+C+Dia | c+S+E | c+E+S+Fyb |
|------------------|---------|-------|---------|---------|---------|-------|-----------|
| FRECUENCIA (%) | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| No. CASOS | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

| ALOANTICUERPOPOS | c+E+Jka+K | C+e+Fya+Dia |
|------------------|-----------|-------------|
| FRECUENCIA (%) | 3 | 3 |
| No. CASOS | 1 | 1 |



Gráfica 8.7.2 Frecuencia de las mezclas de aloanticuerpos encontrados libres en suero en pacientes sin AHAI canalizados al BCS del CMN S. XXI de Enero del 2002 a Junio del 2004.

9.-ANÁLISIS DE RESULTADOS:

En el presente estudio se analizó un total de 152 muestras de pacientes que llegaron al servicio del BCS del CMN S. XXI en un período comprendido entre Enero del 2002 a Julio del 2004 y como se muestra en la gráfica 8.1 que corresponden a aloanticuerpos y autoanticuerpos de la población incluida la mayor frecuencia 68.5 % se observa en la población femenina y 31.5 % en la población masculina lo cual se esperaba ya que las 64 mujeres por sensibilización de embarazos y además por patologías de tipo ginecológico recurren a la terapia transfusional. También, se ha propuesto que puede constituir un desencadenante del cuadro hemolítico, cuando existe un sistema inmunitario previamente anómalo por el mismo motivo es ya conocida en la asociación entre AHAI y síndromes mielodisplásicos.

En el siguiente cuadro se muestran el número de casos que se presentaron de AHAI y aloanticuerpos de acuerdo al sexo y para ambos tipos de anticuerpos la frecuencia para mujeres es mayor, por lo ya mencionado anteriormente.

| DIAGNÓSTICO | MUJERES | HOMBRES | TOTAL |
|--------------------------|---------|---------|-------|
| No. Casos AHAI | 39 | 23 | 62 |
| No. Casos ALOANTICUERPOS | 64 | 26 | 90 |
| TOTAL | 103 | 44 | 152 |

Es de suma importancia considerar el control de calidad en el laboratorio de inmunohematología y la aplicación de los procedimientos de manera correcta para la obtención de resultados fidedignos que pueden verse alterados si no se aplican adecuadamente.

En la gráfica 8.2 se observa la frecuencia en pacientes con AHAI y título del CD obtenido de entre valores de título 1: 8 (18 %) aunque en la mayoría de los pacientes ya se había iniciado un tratamiento, el autoanticuerpo no se ve inhibido totalmente por estos.

Los resultados de CD negativo y eluío positivo; puede ser atribuido a la cantidad de moléculas Ig G por eritrocito menor a 200.

El CD positivo y eluío negativo es debido a complemento fijado por Ig M que se destruye junto con la membrana del eritrocito después del tratamiento del eluío, también es debido a complejos inmunes en donde no está implicada la Ig G ni complemento y que son detectados por el suero de Coombs; Ej: neoantígenos y complejos inmunes relacionados a SIDA.

La frecuencia de las inmunoglobulinas que se muestra en la gráfica 8.3 es importante ya que podemos saber si algún anticuerpo antieritrocitario es el que está ocasionando un estado hemolítico o la activación del complemento, o ambos a la vez.

Estas inmunoglobulinas fueron de tipo: Ig G + C3 (del 44 %) se debe considerar que hay moléculas Ig M de los antígenos Ii que fijan el complemento más Ig G del sistema RH/Hr en la mayoría de los casos.

El Dr. Rodríguez Moyado en su libro el Banco de Sangre y la Medicina Transfusional ³² menciona que es posible en aquellos casos donde sólo se observa complemento los anticuerpos antieritrocitos que motivaron la fijación del complemento tienen baja afinidad, por lo que se desprenden del antígeno; el complemento queda como evidencia de la fijación de un anticuerpo.

Como ya se planteo, la determinación (especificidad) del anticuerpo inmune (llámese autoanticuerpo o aloanticuerpo) antieritrocitario nos permite apoyar al tratamiento lo más adecuado y seguro al paciente por lo que es necesario en todos los casos emplear el

eluido que es una técnica de concentración de anticuerpos por si fuera menor a 200 moléculas como se mencionó, éste se realizó empleando las células de fenotipo conocido con el panel elaborado en el BCS del CMN S. XXI de la población mexicana y con apoyo en algunos casos con un panel comercial de una población anglosajona. Así mismo es necesario para poder interpretar el tipo de anticuerpo presente contar con AT y células de cordón de mismo grupo correspondiente a la muestra problema y de grupo "O positivo" así como células del sistema "ABO" correspondientes al problema y de grupo.

La técnica de elución empleada es muy práctica desde su realización y para la toma de alícuota al realizar la dilución del eluido ya que este queda en la superficie y el estroma no interfiere, se debe considerar que en la técnica se realizó una dilución previa por lo tanto el eluido obtenido corresponde a la dilución 1:2 considerando los siguientes resultados que podemos observar en la gráfica No. 8.4 nos muestra los autoanticuerpos presentes libres en suero y que de la siguiente forma: Autoanti- Ii (50.5%), No demostrable (17.5 %), en Autoantisistema Rh/Hr (16 %) de frecuencia. Su especificidad se determinó con el uso de al menos dos técnicas: salina, albúmina 22%, Bromelina y LISS; En resultados de eluido negativo en muestras CD positivas clase Ig G, se debió a autoanticuerpos que tienen especificidad sólo para los propios antígenos del paciente, en estos casos el autotestigo fue siempre positivo. Los anticuerpos activos de mayor frecuencia son fríos Ig M y en segundo lugar los calientes Ig G, aunque se menciona que en nuestro país lo más frecuente es observar AHAI por anticuerpos activos a 37 °C Ig G vemos que no es lo que se observó en este estudio. recordemos que la mayoría de los casos de enfermedad por crioaglutininas son debido a autoanti-I .

Anti-i se asocia con mononucleosis infecciosa y otras enfermedades linfoproliferativas así como con inmunodeficiencia incluyendo el síndrome Wiskott-Aldrich (50%) y SIDA (64%). Estos se detectan más fácilmente por técnicas salinas a 22 °C y Albúmina 22% A 22 °C siendo inactivos a 37 °C y que pueden causar hemólisis cuando fijan complemento, como lo demuestra este estudio.

En la gráfica 8.4: Se reportan los autoanticuerpos libres en suero de toda la población estudiada con mayor porcentaje para el autoanti-Ii (50 %). No se detecto anticuerpo libre en el 18 % de los casos estudiados y que tenían el autoanticuerpo unido a sus eritrocitos solamente.

En la gráfica 8.4.1 se observa que la mayor frecuencia para Autoanti-Ii fue en mujeres con un 34 % y para hombres un 16.5 %. De los casos en que no se detecto anticuerpo libre en suero fué 14.5 % en mujeres y 3 % en hombres.

En la gráfica 8.5 Se muestra la frecuencia en pacientes con auto y aloanticuerpos libres en suero y sus respectivas frecuencias en el presente estudio fueron para Anti-Fyb y Anti-E 17 %, Anti-Jka, Anti-S, Anti- Dia y Anti e con 11 %. Estas frecuencias son diferentes a las encontradas en la población sensibilizada por embarazos y /o transfusión que no tienen autoanticuerpos.

La gráfica 8.5.1 muestra la frecuencia y especificidad de aloanticuerpos de acuerdo al sexo donde los datos con mayor frecuencia se observan en mujeres, para: Aloanti-E (22.5 %) Aloanti-Fyb (22.5 %) y seguido de Aloanti-e (11 %); para los Hombres las frecuencias para anti-D, anti-JKb, anti-S, anti-Dia y anti-Fya es de 5.5 %.

La gráfica 8.6 Nos muestra las frecuencias obtenidas de autoanticuerpos despegados, en pacientes con AHAI: Se obtuvo para el Antisistema RH/Hr es de (63 %), Negativo con AT positivo (7%), Antisistema RH/Hr + Anti-I (8 %) y No demostrable 10 %.

Para antisistema-Rh/Hr según reportes es de 93 %.

Como parte del tratamiento de apoyo a estos pacientes e independientemente del resultado observado en las pruebas de compatibilidad por cualquier técnica es dar

concentrado eritrocitario por fenotipo, en el dado caso de que este no se pudiera determinar lo ideal es dar concentrado eritrocitario con fenotipo "O positivo" R_1R_1 que es más frecuente en la población mexicana.

Lo obtenido en base al sexo Antisistema RH/Hr /38.5 %) para Mujeres, Negativo con AT positivo (9.5 %) y No demostrable (8 %) como frecuencia total se presenta la mayoría en el sexo Femenino con 64 %. En hombres la frecuencia obtenida para el sistema RH/Hr es de 24 %, Negativo con AT positivo de 3 %.

La agrupación de aloanticuerpos en sistemas se puede observar en la gráfica 8.7 donde el sistema Rh/Hr es mayoría con una frecuencia del 40 % seguido del sistema Kell (17 %) que como ya se ha discutido tiene una alta antigenicidad y es causante potencial de hemólisis de allí la importancia de la fenotipificación y empleo adecuado de hemoderivados y sus respectivas pruebas para terapéutica transfusional.

Los anticuerpos Duffy y Kidd tienen especial importancia porque la mayoría son causantes de hemólisis intravascular tardía entre 8 y 24 horas después de la transfusión, con reportes de muerte por esta causa.

El anti-Diego-a es importante en nuestra población por su frecuencia (9 %) y en la población Europea no se tienen reportes. La hemólisis es extravascular siendo más severa en el anti-Dia que con el anti-Dib, La frecuencia en la población mexicana es: $Di(a+b+) = 6 \%$, $Di(a+b-) = 0.3 \%$.

Los antígenos Kell son importantes debido a su alta inmunogenicidad ya que produce una respuesta inmune en al menos una de veinte personas transfundidas con Kell positivo (produce una reacción hemolítica tardía de tipo extravascular) es el segundo después del antígenoD; en el sistema Kell destacan algunos aspectos clínicos, como el síndrome de MacLeod que se ha reportado en personas de origen caucásico. Los anticuerpos del sistema Kell no fijan complemento y no son destruidos por enzimas. El anticuerpo anti-Dia es comúnmente un anticuerpo inmune que no fijan complemento el antígeno Dia es de baja incidencia en todas las poblaciones excepto de origen Mongoloide (Chinos, Japoneses, Nativos Americanos) presentes que pueden causar Reacción hemolítica transfusional aunque de forma más benigna.

La mayoría de los anti-Fya activan complemento y según algunos autores ha sido implicado con reacciones hemolíticas transfusionales incluso en muertes. Los antígenos del sistema Duffy son destruidos por las enzimas (Bromelina y Fisina). Sin embargo se encontraron también una gran cantidad de aloanticuerpos solos libres en suero y en mezclas de modo que se determinó su frecuencia como se observa en la gráfica 8.7.1 donde la mayor frecuencia es para anti-E y anti-K (27 %), Anti-Fya, Anti-Kpa, Anti-D, Anti-Jka, Anti-.Jkb, Anti-S Anti-P1 Y Anti-Dia (4.5 %).

La gráfica 8.7.2 nos muestra las frecuencias de las mezclas obtenidas de aloanticuerpos libres en suero adquiridos por transfusión en que Anti-Fya + C, Anti-c+Dia, Anti-c+E, Anti-C+e y Anti-E+Dia tienen una frecuencia del 5.6 %.

10.-CONCLUSIONES:

En pacientes del BCS del CMN S. XXI se determinó la frecuencia y especificidad de los anticuerpos antieritrocitos (auto y alo anticuerpos) en pacientes con AHAI y (alo) en pacientes transfundidos, y/o multigesta; es decir que cumplieron con los criterios de inclusión.

Los casos encontrados de AHAI y aloanticuerpos en mujeres 68.5 %, hombres 31.5 %. Pacientes con AHAI mujeres 63 %, hombres 37 %. Mayor frecuencia por edad y sexo 30-49 años mujeres 31 %, hombres 13 %. Autoanticuerpos libres: anti-Ii 50.5 %, antisisistema RH/Hr 16 %, otros 33.5 %. Clase de inmunoglobulinas Ig G +C3d 44%, Ig G 32 % y C3d 8% y no demostrable 16 %. Anticuerpo despegado antisisistema RH/Hr 63 %, antisisistema Rh/Hr+anti-I 8 %, otros sistemas 19 %, anticuerpo no demostrable 10 %. AHAI con aloanticuerpos: Sistema RH/Hr 33.5 %, Duffy 22.5 %, Kidd 16.5 %, Diego 11 %, de otros sistemas 16.5 %. Aloanticuerpos: Mujeres 71 %, hombres 29 %. Anticuerpos por sistemas: RH/Hr 40 %, Kell 17, Duffy 12 %, Diego 9 %, Kidd 8 %, de otros sistemas 14 %.

Por lo anterior se puede concluir que los objetivos planteados se cumplieron, no así la hipótesis; ya que la frecuencia de aloanticuerpos es mayor que la de autoanticuerpos y la mayor frecuencia en autoanticuerpos y aloanticuerpos se encontró en las mujeres.

En el Coombs directo se detectó mayor frecuencia de complemento pegado al eritrocito que lo reportado previamente, en nuestra población los antígenos Ii están implicados con más frecuencia que en otras poblaciones estudiadas.

La frecuencia de aloanticuerpos en los pacientes transfundidos se diferencia de otras poblaciones sobre todo los antígenos Diego y Kell tienen mucha importancia en la transfusión de eritrocitos.

12.-GLOSARIO:

ABSORCIÓN. La eliminación de anticuerpos de un suero, lograda al mezclar el suero con eritrocitos que tienen los antígenos específicos con respecto a los anticuerpos que deben ser eliminados, pero que carecen de los antígenos específicos con respecto a los anticuerpos que deben permanecer en el suero (fenómeno de penetración en membrana).

ADSORCIÓN. El proceso de fijar un anticuerpo a su antígeno específico en la superficie de los eritrocitos (fenómeno de superficie).

AGLUTINACIÓN. Amontonamiento de eritrocitos, causados por la formación de puentes de anticuerpos entre antígenos localizados en la membrana del eritrocito.

AGLUTININA. Un anticuerpo causante de aglutinación.

AGLUTININA FRÍA. Un anticuerpo cuya temperatura de reacción óptima es inferior a 37° C.

ALBUMINA. Proteína que se encuentra en alta concentración en el plasma humano. También se usa como medio potencializador en algunas reacciones antígeno-anticuerpo.

ALELO. Abreviatura convencional para aleomorfo. Se refiere a las diferentes formas o secuencias de DNA que un gen puede tener en una población.

ALOANTICUERPO. Un anticuerpo presente en el suero o plasma de un individuo, capaz de reaccionar con antígenos de otro individuo de la misma especie.

ALOTIPO. Constituyen variables de las inmunoglobulinas que exhiben un patrón mendeliano de segregación.

ANTI-A lecitina. Extracto de plantas preparado de *Dolichos biflorus*, aglutinante de eritrocitos que presentan el antígeno A.

ANTICOAGULANTE. Sustancia usada para prevenir la coagulación de la sangre.

ANTICUERPOS. Moléculas producidas por las células plasmáticas; los anticuerpos se unen a los antígenos invasores. Sustancia que ha sido producida en el plasma como consecuencia de la estimulación antigénica, capaz de reaccionar con el antígeno específico que dio lugar a su formación.

ANTÍGENO DE LOS GRUPOS SANGUÍNEOS. Los productos de los genes de los grupos sanguíneos, que se presentan en la superficie del eritrocito.

ANTÍGENOS. Moléculas que provocan la formación de anticuerpos (derivado de generador de anticuerpos). Sustancia que provoca una respuesta inmune específica cuando se introduce en tejidos de un individuo inmunocompetente llamado huésped.

ANTIGLOBULINA DIRECTA. Técnica para determinar la presencia de anticuerpos o complemento en los eritrocitos. Usando antiglobulina humana se produce una reacción de aglutinación visible.

ANTITETICO. Término usado para referirse a productos de genes alélicos.

ANTICUERPO IRREGULAR DE IMPORTANCIA CLÍNICA. Inmunoglobulina inusualmente presente en el plasma que puede causar enfermedad a través de diferentes mecanismos.

ANTICUERPO NATURAL. Un anticuerpo que se halla en ausencia de antecedentes de exposición a eritrocitos, y se genera por reacción cruzada.

AUTOGLUTININA O AUTOANTICUERPO. Anticuerpo atípico en el suero de un individuo, el cual aglutina sus propios eritrocitos.

AUTOANTICUERPOS CALIENTES. Anticuerpos que actúan a 37° por su carácter de incompletos no provocan por sí solos aglutinación de los eritrocitos son responsables de anemias hemolíticas.

AUTOCONTROL. En pruebas sexológicas es un compuesto de suero o plasma de una persona con eritrocitos de la misma; utilizado para comparación. El autocontrol siempre detecta autoanticuerpos.

AUTOINMUNIDAD. Proceso en el que el sistema inmunológico ataca a los componentes del organismo.

AUTOLOGO. Término para productos o hemocomponentes del mismo individuo.

BROMELINA. Enzima proteolítica preparada de piña, separa el ácido siálico de los eritrocitos, aumenta las reacciones de algunos anticuerpos y destruye ciertos antígenos presentes.

C3 convertasa.(C4b2a) En la vía clásica del complemento actúa como enzima que rompe el C3 en C3a y C3b. en la vía alterna C3 convertasa (C3bBb) compuesto que rompe a C3 en C3b y C3a.

C3a. Fragmento activo biológico de la molécula de C3; anafilotoxina.

CONCENTRADO DE ERITROCITOS. Unidad que contiene principalmente eritrocitos después de haber sido retirado casi completamente el plasma de la sangre recolectada.

COMPATIBLE. En las pruebas de compatibilidad de los grupos sanguíneos, este término se emplea para indicar que el suero de un individuo no reacciona *in vitro* con los eritrocitos de otro individuo. Compatibilidad no significa necesariamente que los dos individuos tengan antígenos idénticos, siendo posible la inmunización.

COMPLEMENTO. Grupo de más de 25 glicoproteínas en la circulación que cuando se activan actúan como enzimas y participan en varias actividades biológicas, incluyendo lisis de las células, opsonización, quimiotaxis y reacciones de antígeno anticuerpo.

CRIOAGLUTININAS. Aglutinan eritrocitos propios a bajas temperaturas (0-5° C) son generalmente autoanticuerpos IgM.

DETERMINANTE ANTIGÉNICO. Parte de un antígeno que reacciona específicamente con un anticuerpo.

DONATH-LANDSTEINER. Prueba que identifica anticuerpo bifásico en Hemoglobinuria paroxística al frío.

ELUIDO O ELUATO: El medio fluido conteniendo anticuerpos que fueron separados deliberadamente de los glóbulos rojos

ELUCIÓN. El procedimiento que obliga a que anticuerpos absorbidos se separen de la superficie de los eritrocitos y pasen a un medio eluido, los cuales pueden ser utilizados en pruebas serológicas.

ENZIMAS. Sustancias proteolíticas que modifican la membrana del eritrocito y se utilizan para identificación de antígenos y anticuerpos.

ESPECIFICIDAD. Capacidad de un anticuerpo de reaccionar exclusivamente con eritrocitos que tienen en común los correspondientes determinantes antigénicos.

FENOTIPO. Características observadas en un individuo, producidas por la interacción entre genes y entorno. Individuos del mismo fenotipo pueden tener distintos genotipos.

FRECUENCIA. Número de repeticiones de un fenómeno en cierto periodo o dentro de una población precisa.

GEN. Unidad fundamental de la herencia.

GENOTIPO. Constitución alélica de un individuo en un locus.

HEMAGLUTINACIÓN. Proceso evidente visible de interacción de eritrocitos con anticuerpos unidos a antígenos de otros eritrocitos.

HOMOCIGOTO. Individuo cuyos dos alelos en un locus son idénticos.

INMUNOGENO. Antígeno que estimula la formación de un anticuerpo inmune.

INCIDENCIA. Frecuencia de ocurrencia de cualquier acontecimiento o trastorno durante un periodo y en relación con la población en la que ocurre

INMUNOGLOBULINA. Receptor localizado en la superficie de las células B. Cuando las células B que han madurado en células plasmáticas las secretan a la circulación, las inmunoglobulinas se les denominan anticuerpos.

INMUNOLOGÍA. Estudio de las reacciones cuando se introducen sustancias extrañas al organismo.

ISOINMUNIZACIÓN. Inmunización dentro de la misma especie, ejemplo en humanos posteriores a la transfusión o embarazo.

LISIS. Ruptura de células o eritrocitos.

LISS. Solución de baja fuerza iónica que se utiliza como potenciador en reacciones de aglutinación por disminución de cargas en la superficie del eritrocito. Resultando en una disminución del tiempo de incubación.

MONOCLONAL. Grupo de células que forman un único clon; es decir todas las células proceden de la misma célula ancestral.

PLASMA. Fracción líquida de la sangre tratada con un anticoagulante.

PLASMA DESPROVISTO DE CRIOPRECIPITADO O FACTOR VIII. El remanente después de haber separado algunos factores de coagulación por técnicas de crioprecipitación.

PREVALENCIA. La proporción de una población que presenta una infección en un momento determinado

PRUEBA DE ANTIGLOBULINA DIRECTA. Prueba que determina la presencia de anticuerpos y/o complemento, fijados a la membrana del eritrocito.

PRUEBA DE ANTIGLOBULINA INDIRECTA. Prueba para determinar la presencia de anticuerpos en una mezcla de suero.

PRUEBA DE COMPATIBILIDAD. Todas las pruebas que se realizan entre donantes y receptores previos a la transfusión, para establecer que la sangre que se va a transfundir es compatible.

REACCIÓN HEMOLÍTICA TRANSFUSIONAL. Destrucción de eritrocitos *in vivo* durante o después de una transfusión, debida a incompatibilidad serológica entre el receptor y el donador.

RESPUESTA ANAMNÉSICA. La rápida reaparición de un anticuerpo que sigue a la exposición de un antígeno, para el cual la persona ya había desarrollado una respuesta primaria.

SECRETOR. Individuo cuyas secreciones contienen sustancias A, B y H hidrosolubles.

SENSIBILIZADO. Sinónimo de inmunizado.

TÍTULO. Cantidad de anticuerpos en el suero.

13. ABREVIATURAS

| | |
|--------|---|
| BCS | Banco Central de Sangre |
| CMN | Centro Médico Nacional |
| S.XXI | Siglo 21 |
| Q.F.B. | Químico Farmacéutico Biologo |
| Ig | Inmunoglobulina |
| EHRN | Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido |
| RT | Reacción Transfusional |
| Ac | Anticuerpo |
| Ag | Antígeno |
| JK-a | Kidd-a |
| Fy-a | Duffy-a |
| Fy-b | Duffy-b |
| K | Kell |
| k | cellano |
| Di-a | Diego-a |
| Di-b | Diego-b |
| Le-a | Lewis-a |
| Le-b | Lewis-b |
| PAI | Prueba de Antiglobulina Indirecta |
| PAD | Prueba de Antiglobulina Directa |
| AGH | Anti Globulina Humana |
| AT | Autotestigo |
| Fc | Factor cristalizable |
| BH | Biometria Hemática |
| mm | Milímetros |

| | |
|------|---|
| c/u | cada uno |
| rpm | Revoluciones por minuto |
| seg | |
| S | Segundos |
| CRh | Control de Rh |
| CD | Coombs Directo |
| min | Minutos |
| Alt | Alternativo |
| ISBT | International Society Blood transfusion |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |
| D+ | D Positivo |
| D- | D Negativo |
| LW | Landsteiner-Wiener |
| SP | Suero Puro |
| D.F. | Distrito Federal |

11.-REFERENCIAS:

- 1.-Radillo G, Escamilla G. Medicina transfusional. México: Prado, 1999: 75-76, 98, 133
- 2.-Mollison P. Transfusión de sangre en medicina clínica. España: Reverté, 1987: 231-235
- 3.-Walker R. Mathematical genetics. In: Wilson J. Genetic for blood bankers. Washington D.C. AABB; 1990:
- 4.-Camerno W, Diamond L. Chemical, clinical and immunological studies on the products of human plasma fractionation; serum albumin as a diluent for Rh reagentes. J clin 1945; 24:793
- 5.-Pollack W, Hager R, Reckel R, Toren D, Singher H. A study of the forces involved in the second stage of hemagglutination. Transfusion 1965; 5: 158-183
- 6.-Low B., Messeter L. Antiglobulin test in low-ionic strength salt solution for rapid antibody screening and cross-matching. Vox Sanguinis 1974; 26: 53-61
- 7.-Pickles M., Effects of cholera filtrate on red cells as demonstrated by incomplete Rh antibodies. Nature 1946; 158:380
- 8.-Fabijarińska-Mitek, Lopieriska H. Zuparińska B. Gel test application for Ig G subclass detection in auto-immune haemolytic anaemia. Vox Sanguinis 1997 72: 233-237
- 9.- Nathalang-Oytip, Chuansumrit-Ampaiwan, Prayoonwiwat-Wichai, Siripoonya Praput, Sriphaisal-Thip. Comparison between the conventional tube technique and the gel technique in direct antiglobulin tests. Vox Sanguinis 1997; 72: 169-171
- 10.-Fiorin F, Cozzi M. An original method to study specificity in haemoglobin stained eluates by the column agglutination techniques. Clin. Lab. Haem. 1997; 19: 209-211
- 11.-Reis K, Chachowski R, Cupido A., et al. Column agglutination technology the antiglobulin test. Transfusion 1990;30: 109-113
- 12.- Abbas A, Lichtman H. Inmunología celular y molecular. 4ed, España: Mcgraw-Hill, 2000:Pág. 3-8
- 13.-Roitt I. Moléculas que reconocen al antígeno inmunología fundamentos.7ed, España: Panamericana, 1994:43-57
- 14.- Kelton J. Transfusión sanguínea bases teóricas y aplicación clínica. México: Doyma, 20-33
- 15.-Linares J. Inmunohematología y transfusión, principios y procedimientos. Caracas: Cromotip, 1986: 22-31, 198,199
- 16 Martínez M. Banco central de sangre CMN S XXI, tópicos selectos de medicina transfusional. México: Prado, 2002: 87

- 17.-Gaduzda G. Hematología aspectos fisiopatológicos, 2ed, México: Interamericana, 1981: 224
- 18- García-Gala, Vargas-Pabon, Rodríguez- Vicente, Ramírez-Payer, Rosón-Porto, Corte-Belga. Aloimmunización en pacientes politransfundidos. Sangre 1994;
- 19 - Urbaniak S. Alloimmunity to human red blood cell antigens. Vox Sanguinis 2002;83 (Suppl. 1): 293-297
- 20-Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA1-1993, 6-6
- 21.-Corrons V. Hematología clínica. 4ed. España: Harcourt, 224
- 22.-Cristo-Pérez, Lasanta-Otero, Suarch-Guerchicoff, González-Otero, Cristo-Moron. Características y evolución de la anemia hemolítica autoinmune en niños. Rev Cubana Haematol Hemoter, 1998; 14:121-123
- 23.- Carrillo-Farga: Hematologia para el químico y el patólogo clínicos. VIII Las anemias hemolíticas III. Adquiridas. Laborat-acta, 1998; 10:9-13
- 24.-Williams, Lichtman, Coller, Kipps, Seligsohn. Hematology, 6ed, USA: Mcgraw-Hill, 2001:639-649
- 25.-Iturbe T, Abaceta G, Varo M., y cols. Autoanticuerpo en un Caso de Anemia Hemolitica Autoinmune Asociada a Síndrome Mielodisplásico. Sangre 1996; 41: 403-404
- 26.-Ramakrishma R, Manohuran A. Autoimmune Haemolytic anaemia in ulcerative colitis. Acta Haematology 1994 ; 9 : 99-102
- 27.- Hernández F, Linares M, Ferrer L, Cuquerella J, Sánchez H, Tome A, Miguel A. Auto-Immune Haemolytic a anemia in ulcarative colitis: report of three cases Acta Haematology 1994; 91: 213-214
- 28.- Haruki-Kondo, Takashi-Oyamada, Akinori-Mori, y cols. Direct-Antiglobulin-Test- Negative Immune Haemolytic Anaemia and Thrombocytopenia in a Patient with Hodking´s Disease Acta Haematologica 2001; 105:233-236
- 29.-Fluit C, Kunst Vand Drenthe-Schonk A.M. Incidence of Red Cell Antibodies after Multiple Blood Transfusion. Transfusion 1990; 30: 532-535
- 30.-Salloum Emile, Lundberg Bruce W. Haemolytic anemia with positive direct antiglobulin test secondary to spontaneous cytomegalovirus infection in healthy adults. Acta Haematology 1994; 92: 39-41
- 31.- Solves P, Rubia J, Arraiga F, Cervera J, Arnao M, Carpio N, Marty L. Estudio Inmunoematológico actitud transfusional pacientes con anticuerpos públicos Sangre 1997; 42:25-29

- 32.- Rodríguez H, Quintanar E. Medicina transfusional y banco de sangre. México: Panamericana, 2004: 46, 76,77
- 33.-Technical manual, American association of Blood Banks. 14 th. Glenbrook Road; USA: 2003: 295-301
- 34.-Lisker R. Estructura genética de la población mexicana, Aspectos médicos y antropológicos. México: Salvat, 4, 15, 49
- 35.-Gamma-Biologicals. Material didactico sección 1: Grupos sanguíneos
- 36 – Reid ME, Some concepts relating to the molecular genetic basis of certain MNS blood group antigens. Transfusion Medicine 1994; 4: 99-111
37. - Lee S, Naime S, Reid M and Redman M. Molecular basis for the high-incidence of the Kell blood group system. Transfusion 1997; 37: 1117-1122
38. - Pierce SR, Macpherson CR, Blood group systems: Duffy, Kidd and Lutheran. Arlington, VA. American Association of Blood Banks 1988: 53-88.
- 39.-Layrisse M, Arends T, Dominguez SR. Nuevo grupo sanguíneo encontrado en descendientes de Indios. Acta Med Venez 1955; 3: 132-138
- 40.-AABB. Blood groups: P,I, Sd^a , amd Pr. AABB Library congress, 1991; USA: 42-44
- 41.-Rodríguez H, Quintanar E, García E, y García A. Prontuario de Técnicas de Inmunoematología: Esquemas y Procedimientos Inmunoematológicos. B.C.S. de C.M.N. S.XXI.
- 42.-Pérez J. Aglutinación de microvesículas eritrocitarias por anticuerpos Ig G como un monómero independiente del citoesqueleto. Ciencia UANL 2003; 354-358
- 43.- Coombs-Robin. Historical note: past, present and future of the antiglobulin test. Vox Sanguinis 1998; 74: 67-73
- 44.-Gonzalo J, Carnicero F, Noguero P, Barchín. Trabajos de Hematología y Hemoterapia. Sangre 1999; 44: 84-85.
- 45.- Mollison P, Engelfriet. P, Contreras M. Red cell antibodies against self antigens, bound antigens and induced antigens and Haemolytic transfusion reactions: Blood Transfusion in Clinical Medicine. 10th Oxford. Blackwell Science; 1993.p. 358-89.
- 46-Manual Tecnico, Asociación Americana de Bancos de Sangre. 12 ed. Castellana. AABB. 1996. Asociación Mexicana de Hemoterapia e Inmunología.
- 47.-Branch D, Sv Siok H, Petz L. A new elution procedure using chloroform a non flammatic organic solvent. Vox Sang 1982; 42: 46-53

- 48.- Wayne W. Bioestadística base para el análisis de las ciencias de la salud. 4ed. México: Limusa, 2002: 21-35
- 49.-Ley general de salud: Procesada por el centro de documentación institucional reformas 26 de Mayo 2000 y 05 de Enero 2001; artículos 96 al 100.
- 50.-Quinley E. Immunohematology, 2ed Philadelphia: Loppincott, 1998:58-159
- 51.-Clayton T. Taber's Diccionario médico enciclopédico. El Manual Moderno; México D.F. 1997: 66-69, 544, 667,1032
- 52.-International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirement for Manuscript Submitted to Biomedical journal. N Engl J Med 1997; 336:309-315.
- 53.-Solinger-Alan, Hess-Evelyn. Induction of autoantibodies by human immunodeficiency virus infection and their significance. Rheumatic Disease Clinics of North America 1991; 1: 157-59.