



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

Grupos sanguíneos del sistema Duffy: Propiedades e
importancia Clínica.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

PRESENTA:
CERVANTES MIGUELES ROCÍO

ASESORA:
M. en C. Gloria Leticia Arellano Martínez

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2018



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U.N.A.M.
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis.**

Grupos sanguíneos del sistema Duffy: Propiedades e importancia Clínica.

Que presenta la pasante: **Rocío Cervantes Migueles**
Con número de cuenta: **411073781** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica**

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 02 de Febrero de 2018.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Idalia Carmen Avila Miyazawa	
VOCAL	Q.F.B. Rosalba Bonilla Sánchez	
SECRETARIO	M. en C. Gloria Leticia Arellano Martínez	
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Ma. de Lourdes Galván Ruiz	
2do. SUPLENTE	M. en C. Betsabé Rodríguez Pérez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

Contenido

Índice de imágenes.....	2
Índice de tablas.....	3
Abreviaturas.....	4
Resumen.....	5
1. Introducción.....	7
2. Objetivos.....	10
3. Historia del sistema de grupos sanguíneos Duffy.....	11
4. Bioquímica de los grupos sanguíneos del sistema Duffy.....	13
4.1. Glicoproteína Duffy.....	13
4.2. Antígenos Duffy.....	16
5. Genética del Sistema Duffy.....	19
5.1. El Gen Duffy.....	19
5.2. Mecanismo de herencia.....	21
5.3.Fenotipos Duffy.....	21
5.4.Frecuencia fenotípica.....	26
6. Anticuerpos del Sistema Duffy.....	27
6.1. Identificación de anticuerpos Anti-Duffy.....	31
7. Prevalencia en la población.....	37
8. Importancia Clínica del Sistema Duffy.....	42
8.1.Importancia en el banco de sangre.....	43
8.1.1. Caso clínico.....	46
8.2.Enfermedad hemolítica del recién nacido.....	47
8.2.1 Caso clínico.....	48
8.3.Relación con la enfermedad por <i>Plasmodium</i>	51
9. Conclusiones.....	56
10.Perspectivas.....	58
11.Glosario.....	60
12.Referencias.....	63

Índice de imágenes

Imagen No. 1.	Estructura de la glicoproteína Duffy.	14
Imagen No. 2.	Estructura tridimensional de la glicoproteína Duffy.	14
Imagen No. 3.	Secuencia de aminoácidos de Fy (producto mayor).	15
Imagen No. 4.	Representación esquemática de la estructura del gen Duffy, mRNA y la gp-Fy.	20
Imagen No. 5.	Bases moleculares de Fy^x	24
Imagen No.6.	Bases moleculares de Fy (a- b-).	25
Imagen No. 7.	Prevalencia de los fenotipos Duffy en diversas poblaciones.	26
Imagen No. 8.	Diferencias entre los anticuerpos IgG e IgM.....	28
Imagen No. 9.	Representación esquemática de las moléculas de IgG e IgM.	28
Imagen No. 10.	Frecuencia global de Fya.....	38
Imagen No. 11.	Frecuencia global de Fyb.....	39
Imagen No. 12.	Frecuencia global de Fy (a-b-).....	39
Imagen No. 13.	Ciclo de vida de <i>Plasmodium</i>	53

Índice de tablas

Tabla No. 1.	Antígenos Duffy.	18
Tabla No. 2.	Sistema de grupos sanguíneos Duffy.	23
Tabla No. 3.	Comportamiento serológico de anti-Fya y anti-Fyb.	35
Tabla No. 4.	Frecuencia de los antígenos Fya, Fyb, Fy3 y Fy6 en algunas poblaciones.	37

Abreviaturas

AGH	Anti Globulina Humana.
Ala	Alanina.
Asp	Ácido aspártico.
CD	Coombs Directo.
Cys	Cisteína.
DARC	Antígeno Duffy Receptor de Quimiocinas (<i>Duffy Antigen Receptor for Chemokines</i>).
EHRN	Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido.
EICH	Enfermedad Injerto Contra Huésped.
FC	Fracción Cristalizable.
Gly	Glicina.
IL	Interleucina.
ISBT	Asociación Internacional de Transfusión Sanguínea (<i>International Society of Blood Transfusion</i>).
KDa	Kilo Dalton.
TRALI	Lesión Pulmonar Aguda Producida por Transfusión (<i>Transfusion Related Acute Lung Injury</i>).
Thr	Treonina.
MCP-1	Proteína-1 quimiotáctica de monocitos (<i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>).
MGSA	Actividad estimulante del crecimiento del melanoma (<i>Melanoma Growth Stimulatory Activity</i>).
MIP-1	Proteína-1 inflamatoria de macrófagos.
pb	Pares de bases.
PvDBP	Proteína de unión de <i>P. vivax</i> a Duffy (<i>P. Vivax Duffy Binding protein</i>)
RANTES	Regulador por activación normal expresado y secretado por células T (<i>Regulated on Activation Normal T cell Expressed and Secreted</i>).
mRNA	Ácido Ribonucleico mensajero (<i>messenger Ribonucleic Acid</i>).

Resumen.

El sistema de grupo sanguíneos Duffy consta de dos antígenos principales: Fy1 (Fya) y Fy2 (Fyb) sin embargo, existen otros 4 antígenos Fy3, Fy4, Fy5 y Fy6.

Los determinantes antigénicos residen en una glicoproteína ácida (gp-Fy o glicoproteína Duffy) de 336 aminoácidos, cuyo peso molecular es de 35-45 kDa; se extiende por la membrana celular 7 veces, posee un dominio amino-terminal extracelular y un dominio carboxilo-terminal intracelular citoplasmático. Los principales dominios antigénicos se encuentran en las regiones superpuestas en el extremo terminal extracelular.

La glicoproteína Duffy, también conocida como *Duffy antigen/receptor for chemokines* (DARC). Se expresa en células eritroides y no eritroides, incluyendo el endotelio vascular, cerebro, colon, pulmón, bazo, riñón, tiroides y el timo. Es un miembro de la súper familia de receptores de quimiocinas.

El gen Duffy ha sido localizado en la posición 1q22-q23 y está compuesto por dos exones que abarcan 1,500 pb del DNA genómico.

Los grupos sanguíneos del sistema Duffy siguen un patrón de herencia conocido como alelos múltiples, lo cual significa que existen más de dos alelos de un mismo gen. El locus del gen Duffy tiene los siguientes alelos: FY*A y FY*B que codifican para los antígenos codominantes Fya y Fyb, respectivamente; FY*X que es responsable de un antígeno débil Fyb, y FY (Fy null o FY*0), que es responsable cuando es homocigoto del fenotipo Fy(a-b-) en la raza negra y otras poblaciones. Estos alelos son responsables de los cinco fenotipos Duffy: Fy (a+b-), Fy (a-b+), Fy (a+b+), Fy (a-b-) y Fy ($a^- b^w$) también conocido como Fy^x .

La frecuencia de los fenotipos Duffy, varía en diferentes poblaciones como resultado de la selección natural.

Los anticuerpos producidos contra los antígenos Fya y Fyb, se han encontrado después de la transfusión o como resultado del embarazo, rara vez se ha observado

que se produzcan espontáneamente. Ambos anticuerpos son clínicamente significativos ya que pueden causar reacciones transfusionales hemolíticas inmediatas y retardadas, así como producir la enfermedad hemolítica del recién nacido.

Se sabe que los antígenos Duffy son receptores de merozoitos de *Plasmodium vivax* en humanos y de *Plasmodium knowlesi* en macacos y que la glicoproteína Duffy es un receptor de citocinas para los eritrocitos, además actúa como ligando de una gran variedad de quimiocinas proinflamatorias agudas y crónicas, incluyendo la interleucina 8, MGSA, MIP-1 y RANTES. Por lo anterior se realizó este trabajo de investigación documental, para describir y resaltar la importancia de este sistema sanguíneo en diversas patologías y en medicina transfusional.

1. Introducción

El uso de la sangre como alternativa terapéutica no siempre ha sido un procedimiento seguro. Jean-Baptiste Denis, profesor del rey Luis XIV, fue uno de los primeros que se atrevió a transfundir sangre de un animal al ser humano, sin embargo, este intento y otros posteriores fracasaron, debido a la incompatibilidad sanguínea. Hubo que esperar a 1901 para que Landsteiner, al constatar que los eritrocitos de algunas personas se aglutinaban con el suero de otras, descubriese el sistema ABO, lo que permitió un avance decisivo en el ámbito de la transfusión.

Cada ser humano posee moléculas de superficie celular de origen hereditario denominadas antígenos, que son reconocidas por anticuerpos específicos. Las células sanguíneas también poseen antígenos de superficie. Algunos antígenos son comunes a varias personas, lo que introduce el concepto de grupo de personas y, por tanto, de grupos sanguíneos. (Souled & Morín, 2011)

Un grupo sanguíneo se define como una característica heredada (antígeno) sobre la superficie del eritrocito, la cual se puede detectar por medio de un anticuerpo específico. Por otra parte, un sistema de grupos sanguíneos consiste en una serie de antígenos eritrocitarios determinados por un único locus genético o por loci ligados muy estrechamente. Desde el descubrimiento de los grupos sanguíneos A, B y O y hasta el presente se han reconocido 308 antígenos, de los cuales 270 están agrupados en 30 sistemas sanguíneos. La asignación de antígenos a un sistema específico de grupos sanguíneos depende de las relaciones genéticas, serológicas y bioquímicas. La clonación de genes ha hecho posible la asignación definitiva y ha permitido algunas designaciones no aprobadas previamente por los estudios tradicionales, sin embargo, aún existen antígenos que no se han podido agrupar en un sistema conocido. (Arbeláez, 2009)

El descubrimiento y estudio de los grupos sanguíneos es un avance significativo en el campo de la medicina ya que tiene relación directa con la terapia transfusional.

Durante el proceso de transfusión sanguínea, el concentrado eritrocitario funciona como un mecanismo auxiliar en el sistema circulatorio de pacientes a quienes alguna condición patológica les impide elaborar eficientemente sus propias células sanguíneas o en aquellos con pérdida sanguínea grave donde se requiere el vital líquido para recuperar o mantener la homeostasis del organismo. No obstante, su utilidad, la medicina transfusional reconoce efectos nocivos ocasionados por reacciones inherentes a los procesos de transfusión cuya aparición puede ser inmediata o tardía. (Quintanar, 1997)

El conocimiento serológico/inmunológico de estos sistemas de grupos sanguíneos eritrocitarios es antiguo (supera el siglo en el caso de Landsteiner y el sistema ABO) sin embargo, su conocimiento molecular es bastante más reciente, especialmente en sus aspectos genéticos y funciones biológicas. (González, 2005; Westhoff & Reid, 2007; Knowles & Regan, 2013)

Entre sus estructuras de superficie, el eritrocito cuenta con transportadores específicos, receptores y enzimas, que le permiten desarrollar sus funciones de intercambio con el medio a través de su membrana. Algunas de estas estructuras son antígenos pertenecientes a los sistemas de grupos sanguíneos. (González, 2005)

Algunas de las funciones que se han atribuido a los antígenos de los grupos sanguíneos son:

- Transportadores de moléculas biológicamente importantes a través de la membrana celular.
- Receptores de estímulos externos y células de adhesión.
- Reguladores del complemento para prevenir la destrucción de los eritrocitos.
- Enzimas.
- Anclaje de la membrana celular al citoesqueleto.
- Formar parte de la matriz extracelular.

(Arbeláez, 2009)

Hoy en día la importancia del estudio de los grupos sanguíneos radica principalmente en la seguridad con que se transfunde la sangre de donantes a pacientes. El sistema de grupos sanguíneos Duffy posee gran relevancia en la práctica transfusional debido a que pueden causar reacciones transfusionales hemolíticas inmediatas o retardadas, así como desencadenar la Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido.

Esta investigación documental pretende proporcionar una descripción detallada de las características y propiedades de los grupos sanguíneos del sistema Duffy, destacando su importancia clínica y prevalencia en la población.

2. Objetivos

- Describir las características bioquímicas del sistema Duffy mediante la investigación en fuentes documentales, para identificar las propiedades de este.
- Identificar la frecuencia fenotípica y genotípica de los grupos sanguíneos del sistema Duffy, mediante el análisis de datos obtenidos de diversas publicaciones, para conocer la prevalencia de estos en diferentes poblaciones.
- Destacar la relevancia clínica de los antígenos y anticuerpos de este sistema, mediante el análisis de casos clínicos reportados en la literatura, para resaltar su importancia en el banco de sangre y en la terapia transfusional.

3. Historia del sistema de grupos sanguíneos Duffy

El sistema de grupos sanguíneos Duffy fué descrito serológicamente en el año de 1950 cuando Cutbush y asociados, describieron la reactividad de un anticuerpo que fue encontrado en un varón hemofílico de 43 años de edad, que había recibido múltiples transfusiones. Este sistema lleva el apellido del paciente, Duffy, las dos últimas letras de los cuales proporcionan la nomenclatura abreviada (Fy). (Cutbush & Mollinson, 1950)

Un año más tarde, Ikin y sus colaboradores descubrieron el anticuerpo anti-Fyb en el suero de una paciente, dos días después del nacimiento de su tercer hijo. Los antígenos Duffy restantes (Fy3, Fy4, Fy5) fueron descubiertos 20 años más tarde, entre 1971 y 1973. (Castillo, 2013)

En 1975, Fy fue identificado como el receptor de los merozoitos de *Plasmodium vivax* y de *Plasmodium knowlesi* que son los agentes responsables de diferentes formas de malaria en seres humanos y monos, respectivamente. Esta función fue puesta en evidencia por Miller demostrando la resistencia de ciertos eritrocitos a la invasión de merozoitos de *Plasmodium knowlesi* que eran cultivados *in vitro* en esa época. En 1989, Barnwell confirmó los mismos experimentos con *Plasmodium vivax*. (Jens, Novaretti & Pagliarini, 2005)

En 1987, el primer anticuerpo monoclonal murino anti-Fy6 fue obtenido lo que definió otro determinante antigénico Duffy (Fy6) presente en todas las células Duffy-positivo. Este epítipo reveló importantes descubrimientos sobre la estructura-función del sistema Duffy. (Nichols, Rubistein, & Barnwell, 1987)

A partir de 1989, los estudios referentes al sistema Duffy tomarían un nuevo impulso. La purificación de la proteína Duffy y la clonación del DNA que la codifica han contribuido a perfeccionar los estudios estructurales y funcionales. El antígeno Duffy fue clonado en el año de 1993 demostrando ser una proteína de siete dominios transmembranales. La homología de esta proteína con los receptores de quimiocinas,

(péptidos implicados en la respuesta inflamatoria) aporta un nuevo enfoque en el estudio de la función biológica de los grupos sanguíneos Duffy. (Tournamille, 2000)

El grupo de trabajo de la Asociación Internacional de Transfusión Sanguínea (ISBT) ha establecido un sistema estandarizado para clasificar los antígenos de los grupos sanguíneos. La terminología de la ISBT fue ideada como una nomenclatura numérica para facilitar su automatización. Se trata de una designación de seis dígitos que indica la especificidad de cada grupo sanguíneo. Los primeros tres números identifican el sistema del grupo sanguíneo y los últimos tres números identifican la especificidad individual. (Daniel, et al., 2009)

El símbolo y número del sistema aceptado por la ISBT para el sistema Duffy es: FY y 008 (seguido del número del antígeno 001, 002, respectivamente para cada antígeno).

4. Bioquímica de los grupos sanguíneos del sistema Duffy

La importancia biológica de muchos antígenos de los grupos sanguíneos se debe principalmente a su estructura y características bioquímicas, dichos antígenos pueden ser proteínas o glicoproteínas estructurales de la membrana del eritrocito, aunque pueden expresarse en otras células y tejidos.

4.1. Glicoproteína Duffy

Los determinantes antigénicos de los grupos sanguíneos del sistema Duffy residen en una glicoproteína ácida, conocida como glicoproteína Duffy, también llamada *Duffy antigen/receptor for chemokines* (DARC) o bien gp-Fy. (Castillo, 2013)

Fue descrita en 1982 por Moore y colaboradores y en 1984 Hadley y colaboradores demostraron mediante la técnica de inmunodetección que el componente de los eritrocitos que porta a los antígenos Duffy, es una proteína sensible al tratamiento con quimiotripsina y resistente a tripsina. (Langhi & Bordin, 2005)

Es una proteína de transmembrana que atraviesa la membrana celular 7 veces y tiene un dominio amino-terminal extracelular de 60 aminoácidos, tres bucles extracelulares, tres citoplasmáticos y un dominio carboxilo-terminal intracelular compuesto por 28 aminoácidos, como se observa en las imágenes No. 1 y No. 2. (Castillo, 2013)

La cadena polipeptídica está compuesta por 336 aminoácidos (imagen No.3) y tiene un peso molecular de 35-45 kDa. Chaudhuri demostró que la proteína Duffy se encuentra N-glicosilada y posee tres potenciales sitios de N-glicosilación en Asn 16, Asn 27 y Asn 33, presentes en el dominio amino terminal extracelular. La variación del grado de N-glicosilación probablemente contribuye a la gama de peso molecular de 35-45 kDa. (Jens, Novaretti & Pagliarini, 2005)

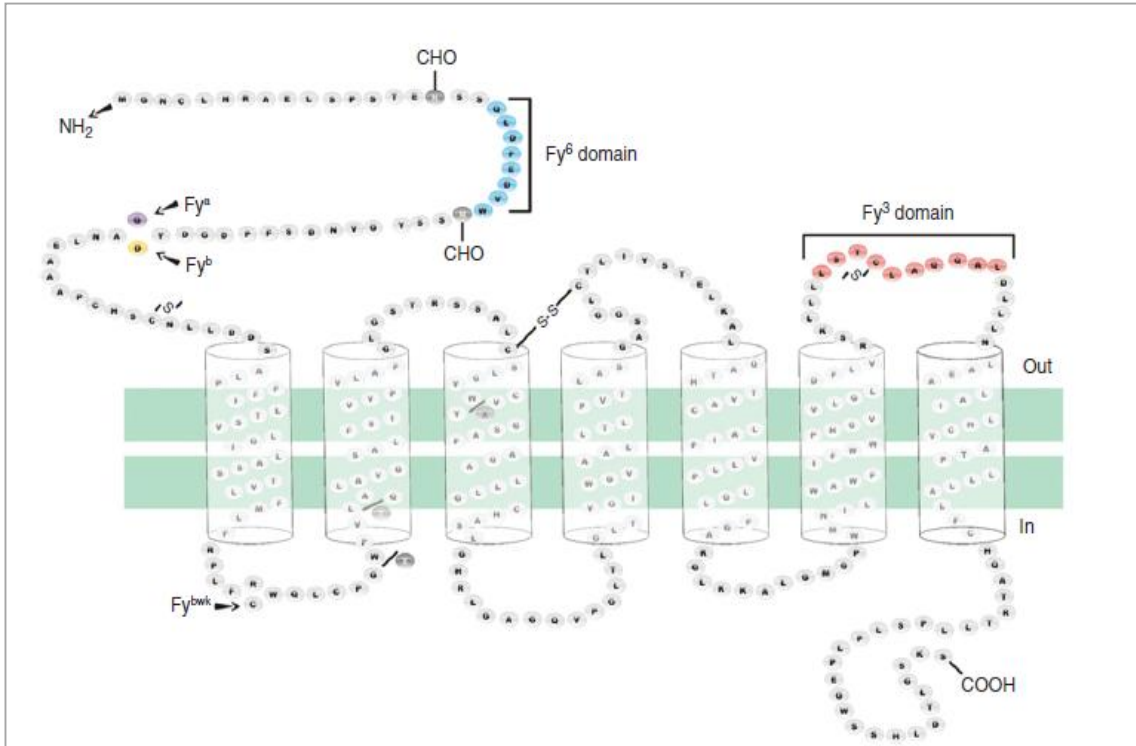


Imagen No. 1. Estructura de la glicoproteína Duffy. (Tomada de Castillo, 2013)

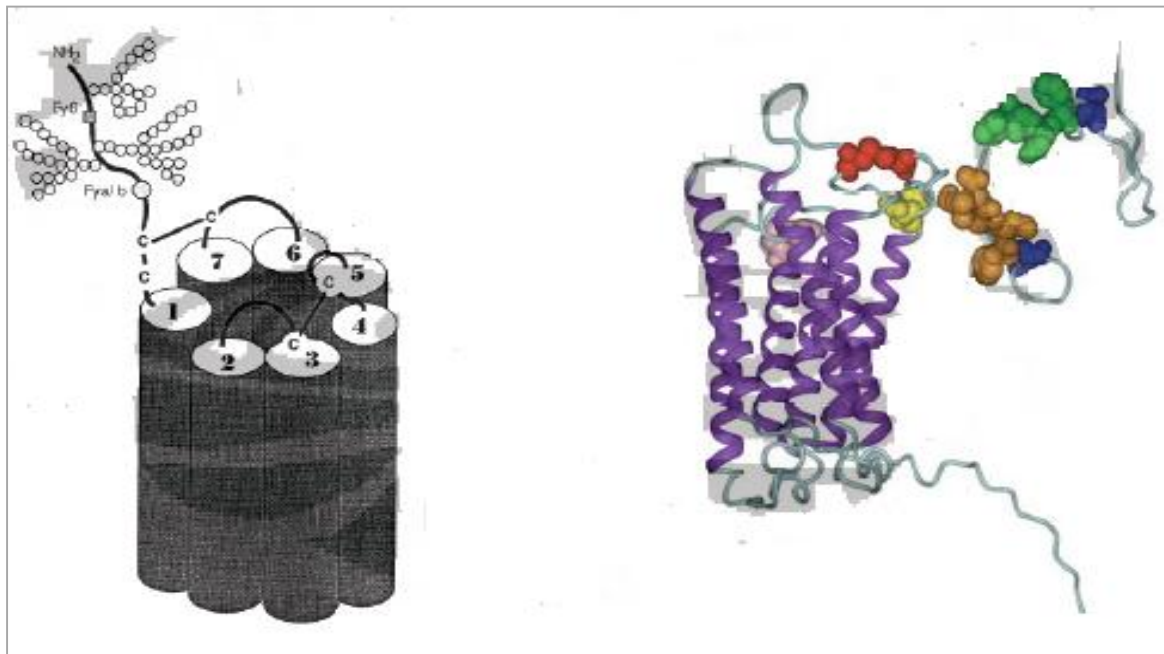


Imagen No. 2. Estructura tridimensional de la glicoproteína Duffy. (Tomada de Muhamad, 2011)

Existen dos variantes de Fy denominadas producto menor (α) y producto mayor (β) cuyas cadenas polipeptídicas se componen de 338 y 336 aminoácidos respectivamente. Ambos polipéptidos difieren en su extremo N-terminal ya que el producto menor de 338 aminoácidos tiene MASSGYVLQ en lugar de los primeros siete aminoácidos (MGNCLHR) presentes en el producto mayor. Esta diferencia estructural aparentemente no es biológicamente significativa, ya que los anticuerpos anti-Fy y quimiocinas se unen indistintamente en ambas formas, sin embargo, se sabe que el producto mayor es el que predomina en tejidos y células, motivo por el cual se considera como de mayor interés clínico. (Tournamille, 2000)

Producto mayor.					
MGNCLHRAEL	SPSTENSSQL	DFEDVWNSSY	GVNDSFPDGD	YDANLEAAAP	50
CHSCNLLDDS	ALPFFILTSV	LGILASSTVL	FMLFRPLFRW	QLCPGWPVLA	100
QLAVGSALFS	IVVPVLAPGL	GSTRSSALCS	LGYCVWYGSA	FAQALLLGCH	150
ASLGHRLGAG	QVPGLTLGLT	VGIWGVAALL	TLPVTLASGA	SGGLCTLIYS	200
TELKALQATH	TVACLAIFVL	LPLGLFGAKG	LKKALGMGPG	PWMNILWAWF	250
IFWWPHGVVL	GLDFLVRSKL	LLLSTCLAQQ	ALDLLNLAE	ALAILHCVAT	300
PLLLALFCHQ	ATRTLLPSLP	LPEGWSSHLD	TLGSKS		336

Imagen No. 3. Secuencia de aminoácidos de Fy (producto mayor). (Tomada de Pogo y Chaudhuri, 2000)

La glicoproteína Duffy se expresa en células eritroides y no eritroides, incluyendo el endotelio, cerebro, colon, pulmón, bazo, riñón, tiroides y el timo. Es un miembro de la súper familia de receptores de quimiocinas y desempeña un papel importante en el proceso inflamatorio. Liga una variedad de quimiocinas pro inflamatorias agudas (C-X-C) y crónicas (C-C). (Castillo, 2013)

Las quimiocinas se dividen en dos subfamilias principales y difieren por dos residuos aminoácidos terminales de cisteína implicados en la unión disulfuro. Puede ser adyacente (C-C quimiocinas) o separado por un aminoácido (C-X-C quimiocinas). En la inflamación aguda las C-X-C quimiocinas actúan principalmente en los neutrófilos,

y durante la inflamación crónica las C-C quimiocinas actúan principalmente sobre monocitos, linfocitos y eosinófilos.

Cada quimiocina tiene un receptor específico al cual se une con alta afinidad. En 1991, Darbonne descubrió un nuevo receptor de quimiocinas presente en los eritrocitos. Se encontró que este receptor eritroide era un ligando de la familia C-X-C (con afinidad por MGSA y la IL-8) y C-C (con alta afinidad por MCP-1, MIP-1 Y RANTES). (Jens, Novaretti & Pagliarini, 2005)

La ubicación de DARC sobre las células endoteliales, vénulas post-capilares, junto con su capacidad para fijar quimiocinas, sugiere que esta proteína tiene un papel en la cascada inflamatoria, que participa en la formación del gradiente de quimiocinas lo que permite la liberación de los linfocitos en la circulación. (Tournamille, 2000)

Estudios realizados por Middleton demostraron que DARC está implicada en el tránsito y presentación de la IL-8. Recientemente se ha señalado que los antígenos Duffy facilitan el movimiento de quimiocinas a través del endotelio promoviendo la migración de neutrófilos *in vivo* e *in vitro*. (Middleton, et al., 1997 & Lee, et al., 2003)

4.2. Antígenos Duffy

Los antígenos Duffy se han detectado en los eritrocitos fetales a las 6 y 7 semanas de edad y se encuentran completamente desarrollados al nacer. Parece que la cantidad de estos antígenos no varía durante la vida. (Jens, Novaretti & Pagliarini, 2005)

El sistema de grupo sanguíneos Duffy consta de dos antígenos principales: Fy1 (Fya) y Fy2 (Fyb), sin embargo, existen otros 4 antígenos Fy3, Fy4, Fy5 y Fy6, de los cuales, al parecer, sólo Fy3 parece ser clínicamente significativo.

Los determinantes antigénicos de los grupos sanguíneos Fya y Fyb se encuentran en el dominio extracelular N-terminal y difieren por un solo aminoácido en la posición 42 (glicina en Fya y ácido aspártico en Fyb). (Castillo, 2013)

El epítipo conformacional Fy3 está localizado en el tercer bucle extracelular de la glicoproteína Duffy y sus determinantes antigénicos fueron demostrados por ensayos con anticuerpos monoclonales entre los aminoácidos 281 y 285.

Otros epítipos relativos a la glicoproteína Duffy fueron definidos como raros (Fy4 y Fy5) motivo por el cual existe poca información respecto a sus determinantes antigénicos.

La región antigénica Fy6 se encuentra localizada dentro de los aminoácidos residuales 19-26 de la cadena polipeptídica, diversos anticuerpos monoclonales anti-Fy6 reconocen diferentes subfragmentos de esta región. (Jens, Novaretti & Pagliarini, 2005)

Los determinantes antigénicos Fya y Fyb son destruidos por enzimas como la papaína, ficina, bromelina y quimiotripsina sin embargo son resistentes a la acción de la tripsina. La ausencia de lisina y arginina en el dominio N-terminal explica la insensibilidad de Fya y Fyb a la digestión con tripsina. La digestión por neuraminidasa y glicosidasa no inactiva a Fya y Fyb esto es indicativo de que el ácido siálico y los carbohidratos no son determinantes antigénicos de Fya y Fyb.

Las características del antígeno Fy3 aún no se han determinado por completo. Se sabe que el antígeno está presente cuando Fya y/o Fyb están presentes, pero falta en los eritrocitos que son Fya y Fyb negativos. Difiere de Fya y Fyb, ya que Fy3 es potenciado y no se elimina cuando los glóbulos rojos se tratan con proteasas (papaína, ficina, bromelina, tripsina y quimiotripsina) la digestión elimina la mayor parte de los residuos en el dominio extracelular N-terminal de gp-Fy incluyendo Fya y Fyb pero no los determinantes antigénicos Fy3. Por lo cual se sabe que este determinante está localizado en un bucle extracelular resistente a proteasas de la glicoproteína. (Chaudhuri & Pogo, 1995)

El antígeno Fy4 fue descubierto por Behzad en 1973, describió un anticuerpo que reaccionaba solamente con eritrocitos Fya y Fyb negativos de individuos con descendencia africana. En el mismo año, Colledge descubriría el anticuerpo anti-Fy5 que definiría al antígeno Fy5. Se sabe que este antígeno es resistente al tratamiento

con ficina y papaína. Este antígeno está relacionado con las proteínas Rh, ya que está ausente en los glóbulos rojos Rh null. La rara aparición de los anticuerpos anti Fy4 y anti Fy5 ha impedido el progreso de la caracterización de los epítomos correspondientes. (Jens, Novaretti & Pagliarini, 2005)

Tabla 1. Antígenos Duffy.

Antígeno	Determinantes antigénicos	Actividad con proteasas					
		Ficina	Papaina	Tripsina	Quimiotripsina	Bromeli na	Pronasa
Fya/FY1	Gly 42	S	S	R	S	S	S
Fyb/FY2	Asp 42	S	S	R	S	S	S
FY3	281-285	R	R	R	R	R	S
FY4	-	-	-	-	-	-	-
FY5	-	R	R	-	-	-	-
FY6	19-26	S	S	R	S	S	S

Resistente (**R**); Sensible (**S**)

5. Genética del Sistema Duffy

La herencia de características transmisibles o rasgos, incluyendo los antígenos de los grupos sanguíneos, forman la base de la genética. El material genético que determina cada rasgo se encuentra en el núcleo de la célula. Este material nuclear se denomina cromatina, la cual está constituida principalmente por ácido desoxirribonucleico. Cuando la célula se divide, la cromatina pierde su apariencia homogénea y se condensa formando unas estructuras en forma de bastón denominadas cromosomas. Cada cromosoma está formado por cadenas de DNA. Dentro del DNA cromosómico están los genes, que poseen la información genética, los cuales están constituidos por secuencias específicas de nucleótidos. (Arbeláez, 2009)

5.1. El Gen Duffy

Históricamente el gen Duffy fue el primer sistema de grupos sanguíneos cuyo locus genético fue referido a un autosoma, específicamente al cromosoma 1 y está situado próximo a la región centromérica. Inicialmente el locus de Fy fue localizado en la región 1q21-q25. Posteriormente el DNAC correspondiente al mRNA de la proteína Duffy fue clonado a partir de una biblioteca de medula ósea y finalmente su gen fue mapeado en la posición 1q22-q23; compuesto por dos exones que abarcan 1,500 pb del DNA genómico.

Se creía que este gen se consistía por un solo exón, revelando una estructura primaria de un polipéptido altamente hidrófobo, que contiene una secuencia nonapéptido N-terminal (MASSGYVLQ) compuesta de 338 aminoácidos llamada transcrito menor o producto menor. Estudios posteriores revelaron la presencia de otro exón que contiene secuencias codificadoras sin traducir. Este exón puede unirse (después de empalme) al primer (exón 1), para dar origen a un transcrito de 336 aminoácidos que contiene una secuencia heptapéptido N-terminal (MGNCLHR)

conocido como transcrito mayor o producto mayor. (Jens, Novarett & Pagliarini, 2005)

La imagen No. 4 muestra la representación gráfica de la organización estructural del gen de Duffy FY (parte superior), mRNA (medio) y gp-Fy (fondo). Las líneas rectas representan secuencias del intrón. Las cajas sombreadas representan la secuencia codificante del exón 1; mientras que las cajas blancas muestran las secuencias codificantes del exón 2 en FY y mRNA. La caja oscura representa los residuos de aminoácidos en gp-Fy. Las flechas marcan la ubicación de los nucleótidos en el mRNA y los residuos en gp-Fy. La glicina (Gly) y el ácido aspártico (Asp) en la posición 42 define Fya y Fyb, respectivamente, la cisteína (Cys) en la posición 89 define el fenotipo Fyb débil y el residuo 100 muestra la sustitución de la treonina (Thr) por la alanina (Ala). (Chaudhuri & Pogo, 2000)

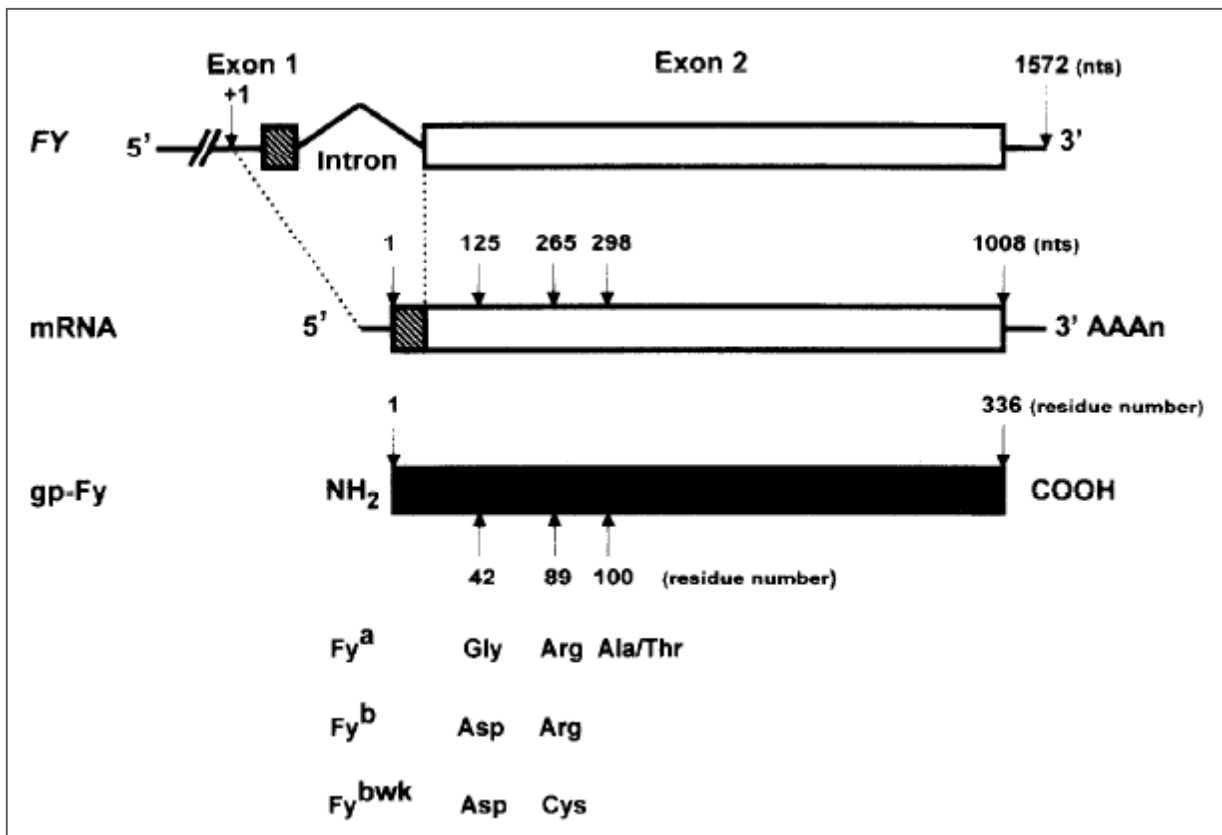


Imagen No. 4. Representación esquemática de la estructura del gen Duffy, mRNA y la gp-Fy. (Tomada de Chaudhuri & Pogo, 2000).

5. 2. Mecanismo de herencia

La mayoría de los genes que codifican para grupos sanguíneos están localizados sobre cromosomas autosómicos y son heredados de acuerdo a las Leyes Mendelianas. La mayoría de los alelos de grupos sanguíneos se expresan como rasgos codominantes lo cual significa que los individuos heterocigotos para un locus particular expresarán ambos productos génicos y este es el caso del sistema de grupos sanguíneos Duffy. (Arbeláez, 2009)

Los grupos sanguíneos del sistema Duffy siguen un patrón de herencia conocido como alelos múltiples, lo cual significa que existen más de dos alelos de un mismo gen. Los tipos sanguíneos son el resultado de las combinaciones de estos alelos diferentes, lo cual da como resultado los cinco fenotipos posibles: Fy (a+ b-), Fy (a- b+), Fy (a+ b+), Fy (a- b-) y Fy (a⁻b^w). Un alelo se hereda de la madre y otro del padre, de modo que el tipo sanguíneo de los hijos dependerá de la combinación de alelos heredados de sus progenitores, así como del patrón hereditario de dichos alelos.

El gen *FY*, presenta dos alelos principales, *FY*A* y *FY*B*. Estos alelos son codominantes, lo que significa que, si el *FY*A* es heredado de un padre y el *FY*B* del otro padre, ambos productos génicos, los antígenos Duffy Fya y Fyb, serán expresados en la membrana del eritrocito. (Chaudhuri, et al., 1993)

5.3. Fenotipos Duffy

Cada gen tiene un locus específico sobre un cromosoma, los genes alternos que ocupan un solo locus se denominan alelos, los cuales son responsables de la especificidad de los antígenos. La terminología de la ISBT distingue entre los alelos para los antígenos de los grupos sanguíneos y los antígenos que ellos codifican.

Los individuos que tienen alelos idénticos en un locus específico en ambos cromosomas se denominan homocigotos para el alelo. En el estado heterocigoto, los alelos presentes en el locus en cada cromosoma no son idénticos. (Arbeláez, 2009)

El conjunto de antígenos eritrocitarios de un individuo que son reconocidos por técnicas serológicas, es denominado fenotipo. Mientras que el conjunto de alelos heredados que son responsables de la expresión de los antígenos en la membrana del eritrocito se denomina genotipo, y es detectado únicamente mediante técnicas de biología molecular. (González, et al., 1998)

El locus del gen Duffy tiene los siguientes alelos: FY^*A y FY^*B , que codifican para los antígenos codominantes Fya y Fyb respectivamente; FY^*X que corresponde al antígeno débil Fyb , y FY (FY null o $FY0$) que es responsable cuando es homocigoto del fenotipo Fy ($a-b-$) en la raza negra y otras poblaciones. Estos alelos son responsables de los cinco fenotipos Duffy: Fy ($a+b-$), Fy ($a-b+$), Fy ($a+b+$), Fy ($a-b-$) y Fy (a^-b^w) también conocido como Fy^x . (Knowles & Regan, 2013)

La naturaleza molecular de los cuatro alelos ha sido elucidada. Estos resultados han permitido la genotipificación de los grupos sanguíneos del sistema Duffy, utilizando técnicas basadas en la PCR, que permiten realizar estudios útiles en medicina transfusional y clínica, la tabla No. 2 muestra los antígenos del sistema Duffy, su relación fenotípica y genotípica (alelos) correspondiente.

El valor clínico de la genotipificación Duffy, incluye la genotipificación en pacientes recién transfundidos para asegurar una elección más precisa de las unidades de donantes compatibles, también es útil en la confirmación del fenotipo Fy^x en muestras Fy ($b-$) utilizadas para la detección de anticuerpos e identificación en el panel de eritrocitos y para la predicción del fenotipo real de los pacientes. Además de su contribución a la exactitud general de la identificación de los antígenos Fy y puede contribuir sustancialmente a la atención del paciente mediante la mejora de la gestión de transfusiones especialmente en pacientes que expresan débilmente el antígeno Fyb . (Castillo, 2013)

Tabla2. Sistema de grupos sanguíneos Duffy.

Antisuero	Antígenos	Fenotipos	Alelos
Anti-Fy ^a	Fy ^a	Fy(a+b-)	FY*A / FY*A
Anti-Fy ^b	Fy ^b	Fy(a-b+)	FY*B / FY*B
Anti-Fy ^a / Anti-Fy ^b	Fy ^b /Fy ^b	Fy(a+b+)	FY*A / FY*B
-	-	Fy(a-b-) blancos	
-	-	Fy(a-b-) otros	
Anti- Fy3	Fy3	Fy(a+b-); Fy(a-b+); Fy(a+b+)	FY*A ó FY*B
Anti- Fy5	Fy5	Fy(a+b-); Fy(a-b+); Fy(a+b+)	FY*A ó FY*B
Anti- Fy6	Fy6	Fy(a+b-); Fy(a-b+); Fy(a+b+)	FY*A ó FY*B

Sistema de grupos sanguíneos Duffy: antisueros, antígenos y su relación fenotípica (alelos). (Tomada y editada de Chaudhuri. & Pogo, 1995)

Los dos alelos codominantes FY*A y FY*B, difieren por un único nucleótido en la posición 125 (G y A, respectivamente) y estos igualmente codifican los antígenos Fya y Fyb que difieren únicamente por un aminoácido en la posición 42 (glicina por ácido aspártico, respectivamente). (Tournamille, 2000)

Los glóbulos rojos con fenotipo Fy ($a^- b^w$) fueron descritos hace más de 30 años, se caracterizan por la expresión débil de Fyb, Fy3 y Fy6. Este fenotipo se asocia a polimorfismos de un solo nucleótido concomitantes en el exón 2 del gen FY; específicamente en el nucleótido 265 de C a T (265 C> T) y en el nucleótido 298 de G a A (298 G> A) que codifican los cambios de aminoácidos Arg89Cys y Ala100Thr, aunque el polimorfismo 265 C> T es la mutación crítica responsable del fenotipo Fy^x (imagen No.5).

Se ha demostrado que Ala100Thr no afectaba la expresión del nivel de proteína Fy de la superficie celular, mientras que Arg89Cys afecta a la traducción y / o estabilidad de la proteína que resulta en una proteína inestable y un nivel reducido de proteína en los eritrocitos. Por tanto el fenotipo Fy^x tiene una décima parte del nivel de antígenos Fy. Esto explica por qué Fy^x no puede ser detectado por los ensayos de

aglutinación estándar utilizados rutinariamente, por lo que puede aparecer como un fenotipo Fy (b-). (Castillo, 2013)

Alelo	Exón	Nucleótido	Aminoácido	Prevalencia étnica
<i>FY*02M.01</i>	2	265C>T 298G>A	Arg89Cys Ala100Thr	Caucásicos (mayoría), Africanos (pocos)
<i>FY*02M.02</i>	2	145G>T 265C>T 298G>A	Ala49Ser Arg89Cys Ala100Thr	Africanos (raro), caucásicos (pocos)

Imagen No. 5. Bases moleculares de *Fy^x*. (Tomada de Lomas & Reid, 2012)

Cuando se heredan dos alelos silenciosos o amórficos, el resultado es un fenotipo nulo o “menos-menos”, esto significa que los antígenos de un grupo sanguíneo en particular están ausentes en los eritrocitos. (Arbeláez, 2009)

El fenotipo Fy (a-b-) encontrado en los afroamericanos es causado por una mutación en la región promotora de *FY*B* (T > C en la posición 46), que interrumpe el sitio de unión para el factor de transcripción eritroide GATA-1 lo que resulta en la pérdida de la expresión de la proteína Fy en las células sanguíneas rojas. Sin embargo, la expresión de la proteína Fy en las células endoteliales no se ve alterada, debido a que el promotor eritroide controla la expresión sólo en las células eritroides. Todas las personas africanas con una secuencia GATA mutada hasta la fecha han mostrado portar Fyb, por lo tanto, Fyb se expresa en tejidos no eritroides. Este hallazgo explica por qué los individuos Fy (a-b-) producen anti-*Fy^a* pero no anti-*Fy^b* (Westhoff & Reid, 2007)

De igual forma se han observado las mutaciones -33T>C, 265 C>T y 298 G>A en individuos tanto de ascendencia africana como caucásica con fenotipo Fy (a- b-). (Jens, Novaretti & Pagliarini, 2005)

El fenotipo Fy (a- b-) también se asocia con una mutación (- 67 T>C) en la caja GATA que impide la trascrición del gen FY en los glóbulos rojos, pero no en otros tejidos, Existe otro fenotipo Fy(a-b-) identificado en caucásicos que resulta de alelos silenciosos. Estos alelos son generados por varios mecanismos moleculares asociados con el codón de parada, causado por mutaciones puntuales o deleciones en el exón 2. (Castillo, 2013)

En la imagen No. 6 se muestran algunas de las mutaciones en los alelos FYA y FYB responsables del fenotipo Fy null.

Alelo	Exón	Nucleótido	Aminoácido	Prevalencia étnica
<i>FY*01N.01</i>	Promotor	-67t>c^	Proteína ausente en eritrocitos	Papúa Nueva Guinea (raro)
<i>FY*01N.02</i>	2	281_295del	fs, Stop	Caucásicos (raro)
<i>FY*01N.03</i>	2	408G>A	Trp136Stop	Raro
<i>FY*01N.04</i>	2	287G>A	Trp96Stop	Raro
<i>FY*01N.05</i>	2	327delC	fs, Stop ²	Raro
<i>FY*02N.01</i>	Promotor	-67t>c^	proteína ausente en eritrocitos	Áfricanos (común); Arabes, Judíos (esporádicamente); Caucásicos (raro)
<i>FY*02N.02</i>	2	407G>A	Trp136Stop	Raro

Imagen No. 6. Bases moleculares de Fy (a- b-). (Tomada de Lomas & Reid, 2012).

5.4. Frecuencia fenotípica

Las frecuencias de los fenotipos de los grupos sanguíneos se obtienen analizando muestras representativas de personas de forma aleatoria, de la misma raza o grupo étnico y observando la proporción de reacciones positivas y negativas con un anticuerpo específico para un grupo sanguíneo. En un sistema de grupos sanguíneos, la suma de las frecuencias del fenotipo debe ser igual a 100%.

En situaciones clínicas para predecir la probabilidad de encontrar sangre compatible con suero que contiene múltiples anticuerpos, es importante el conocimiento de la genética poblacional. Para los cálculos se utilizan las publicaciones de las frecuencias de los fenotipos. (Arbeláez, 2009)

La imagen No. 7 muestra la prevalencia de los fenotipos Duffy en poblaciones de individuos caucásicos, negros, chinos, japoneses y tailandeses. Se puede observar que existe una elevada prevalencia del fenotipo Fy Null en la población negra por lo cual este fenotipo ha sido considerado como un marcador genético para las personas de esta raza. Por otra parte, el fenotipo Fyb débil es inusual, sin embargo, puede aparecer esporádicamente en algunos individuos, independientemente de la población.

Fenotipo	Caucásicos	Áfricanos	Chinos	Japoneses	Tailand
Fy(a+b-)	17	9	90.8	81.5	69
Fy(a-b+)	34	22	0.3	0.9	3
Fy(a+b+)	49	1	8.9	17.6	28
Fy(a-b-)	Muy raro	68	0	0	0

Fyx expresa débilmente a Fyb, por lo que el antígeno no es detectado por anti-Fyb

Null: Fy(a-b-)

Imagen No. 7. Prevalencia de los fenotipos Duffy en diversas poblaciones. (Tomada de Lomas & Reid, 2012)

6. Anticuerpos del Sistema Duffy

Cuando el organismo se expone por primera vez a un antígeno extraño, desencadena una respuesta inmune primaria. Ésta se desarrolla con lentitud y pueden pasar varios meses hasta la aparición de anticuerpos detectables. El segundo contacto con el mismo antígeno determina una respuesta secundaria mucho más intensa, y en general se sintetizan concentraciones más altas de anticuerpos en poco tiempo. La respuesta primaria a menudo se asocia con niveles altos de IgM, mientras que en la secundaria predomina la IgG.

Los anticuerpos contra los antígenos de los grupos sanguíneos suelen producirse como consecuencia de una transfusión de sangre o en caso de un embarazo por el paso de sangre fetal a la circulación materna.

Estas dos clases de inmunoglobulinas, las IgM y las IgG son las principales implicadas en las reacciones inmunológicas transfusionales. Las IgM se presentan en forma de pentámeros y son responsables de una aglutinación de los eritrocitos entre sí, visible a simple vista, de una fijación del complemento y de su activación hasta C9 con lesiones de membrana causantes de hemolisis intravascular. Las IgG son monómeros capaces de atravesar la placenta y de alcanzar al feto o al embrión. Su fijación sobre el antígeno no provoca activación del complemento o causa una activación incompleta hasta C3, con una hemolisis en la mayoría de las ocasiones extravascular, en el hígado o en el bazo. (Souled & Morín, 2011)

La imagen No. 8 muestra algunas de las diferencias que existen entre los anticuerpos IgG e IgM. En la imagen No. 9 se observa la representación esquemática de estas moléculas, destacando la estructura pentamérica de la inmunoglobulina M; donde cada monómero consta de dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras unidas entre sí por puentes disulfuro. Mientras que la inmunoglobulina G está constituida por 4 cadenas polipeptídicas (dos cadenas pesadas y dos ligeras).

	IgG	IgM
Porcentaje del total de inmunoglobulinas	73%	8%
Peso molecular	150.000	900.000
Aglutinación eritrocitaria	No	Si
Cruce placentario	Si	No
Activación del complemento	Si	Si
Temperatura óptima de reacción	37°C	4°C
Tipo de anticuerpo	Inmune	Natural

Imagen No. 8. Diferencias entre los anticuerpos IgG e IgM. (Tomada de Arbeláez, 2009).

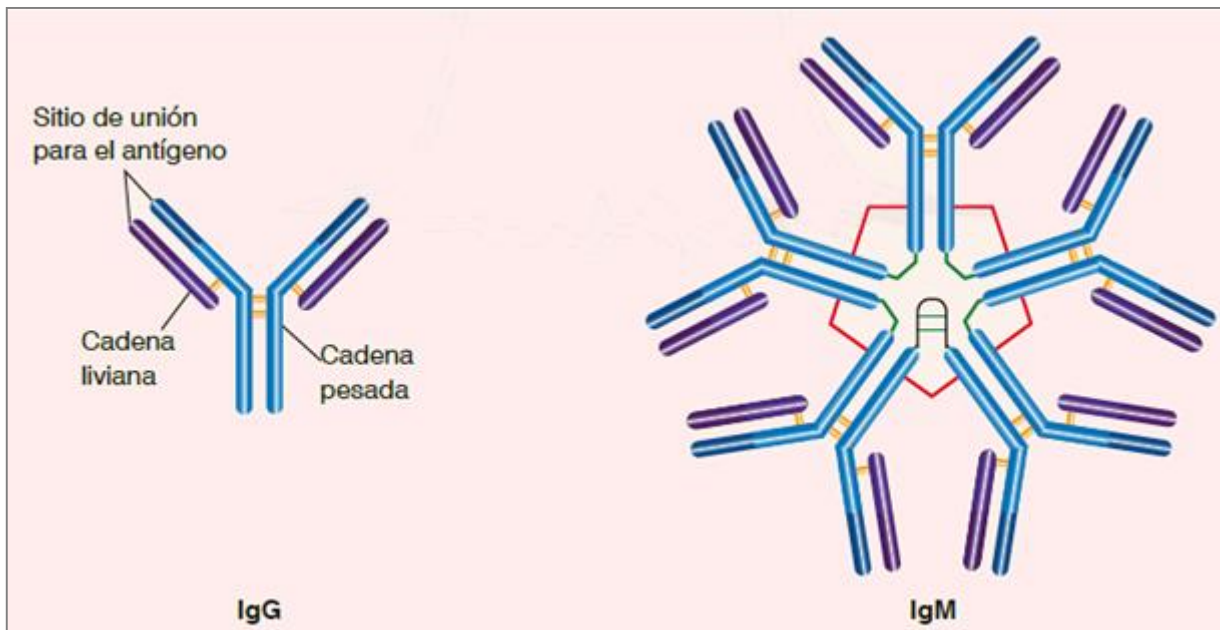


Imagen No. 9. Representación esquemática de las moléculas IgG e IgM. (Tomada de Arbeláez, 2009)

Según Souled F. & Morín F. (2011) los anticuerpos pueden ser clasificados en medicina transfusional como:

- **Naturales.** Cuando están presentes en el organismo sin que exista ninguna estimulación feto-materna, transfusión o trasplante.

- **Regulares.** Se denominan regulares cuando están presentes en todas las personas desprovistas del antígeno correspondiente (como sucede con el grupo ABO).
- **Irregulares.** Cuando su presencia es inconstante.

La importancia clínica de los anticuerpos de los grupos sanguíneos se determina de acuerdo a la capacidad del anticuerpo de destruir los eritrocitos *in vitro*, si el anticuerpo puede cruzar la placenta, por la frecuencia relativa del antígeno y se esté bien desarrollado en el feto. Otros factores importantes son la clase y subclase de inmunoglobulina y el rango térmico del anticuerpo. En general, los anticuerpos clínicamente importantes son IgG que reaccionan a 37°C. (Arbeláez, 2009)

Las moléculas de IgG pueden ser clasificadas en cuatro subclases, designadas IgG1, IgG2; IgG3 e IgG4. Estructuralmente, estas difieren principalmente en la secuencia de aminoácidos de la región constante de las cadenas pesadas y el número y posición de los puentes disulfuro intracatenarios establecidos entre las cadenas H (2 para IgG1 y la IgG4, 4 para la IgG2 y 11 para la IgG3).

Los anticuerpos producidos contra los antígenos Duffy son en su mayoría de tipo IgG. Los que se producen contra los antígenos Fya, Fyb, Fy3 y Fy5 han sido implicados como causa de reacciones transfusionales. (Marín & León, 2000)

Los anticuerpos anti-Fya anti-Fyb se pueden encontrar después de la transfusión o como resultado del embarazo, rara vez aparecen naturalmente y son predominantemente IgG de subclase tipo IgG1. En una serie de estudios, Szymanski comprobaría que la mayoría de los anticuerpos anti-Duffy están compuestos de IgG1, 18% eran IgG2 y 25% eran IgM.

Existen reportes de la aparición natural de anticuerpos anti-Fyb. En 2004, Kim y colaboradores describieron una reacción hemolítica transfusional debido a anti-Fyb por una respuesta inmune primaria. (Jens, Novaretti & Pagliarini, 2005)

El anticuerpo anti-Fyb es menos frecuente que el anti-Fya y es veinte veces menos inmunogénico, por lo general está presente en sueros con otros aloanticuerpos.

Ambos anticuerpos son clínicamente significativos ya que causan reacciones hemolíticas inmediatas y tardías. (Castillo, 2013)

Los anticuerpos anti-Fy3 fueron descritos por Albrey y los anti-Fy5 descritos por Colledge, se trata de anticuerpos raros que reaccionan con todos los eritrocitos excepto los de fenotipo Fy (a-b-).

El único ejemplo de anti-Fy4 fue descrito en 1973 por Behzad y reaccionaba con todos los eritrocitos con fenotipo Fy (a-b-), con la mayoría de los fenotipo Fy (a- b+) y Fy (a+ b-), pero no con células Fy (a+b+). Sin embargo, inconsistencias en los resultados de pruebas realizadas en diferentes laboratorios y la inestabilidad de este anticuerpo ponen en duda la existencia de anti-Fy4. (Lomas & Reid, 2012)

Por otra parte, Nichols descubrió en 1987 el primer anticuerpo monoclonal, que definió al epítipo Fy6 y fue producido mediante la inmunización de un ratón con eritrocitos humanos. (Jens, Novaretti & Pagliarini, 2005)

6.1. Identificación de anticuerpos Anti-Duffy

Los anticuerpos irregulares corresponden a aquellos anticuerpos distintos a los anticuerpos naturales del sistema ABO, que pueden aparecer en respuesta a la exposición a un antígeno eritrocitario extraño (transfusión o trasplante), por incompatibilidad materno-fetal o sin un estímulo identificable. En algunos casos, su presencia se asocia a la exposición a antígenos ambientales, bacterianos o virales de características bioquímicas similares a los antígenos eritrocitarios. (Aburto Almonacid, 2014)

A menudo los numerosos antígenos de grupos sanguíneos diferentes al sistema ABO y Rh son ignorados en el acto transfusional, debido a que muy pocos individuos poseen anticuerpos dirigidos contra alguno de los antígenos como lo pueden ser los que corresponden al sistema Kell, Duffy, Kidd, entre otros, sin embargo, éstos anticuerpos se pueden identificar mediante diferentes técnicas. (Cordero, 2007)

La mayoría de los procedimientos de rutina realizados en el bando de sangre dependen de aglutinación y/o hemólisis como punto final y esta suele reportarse mediante un sistema de cruces: 4+ aglutinados sólidos; 3+ varios aglutinados grandes; 2+ aglutinados de tamaño medio; 1+ pequeños aglutinados; 0 no aglutinación; HP hemólisis parcial; H hemólisis completa.

En ocasiones es útil reportar el título de anticuerpo, este se determina normalmente utilizando una serie de diluciones dobles del suero frente a muestras de hematíes seleccionados, los resultados son la expresión recíproca de la dilución máxima del suero que produce una aglutinación, el título da una idea aproximada de la cantidad relativa de anticuerpo presente en el suero, o de la intensidad de la expresión del antígeno en los hematíes. (Peralta, et al., 2009)

A continuación se describen los fundamentos de algunas de las técnicas para la detección de anticuerpos:

Prueba en solución de Liss.

Consiste en utilizar una solución de baja fuerza iónica (LISS), con lo que al disminuir la carga iónica de la solución se aumenta la sensibilidad para detectar los anticuerpos clínicamente significativos más comunes. El método de la prueba en LISS consiste, en colocar 4 gotas de suero del paciente y una gota de los hematíes al 3-5%, finalmente se añaden 2 gotas de solución LISS y se realiza la incubación durante 15 minutos en la temperatura deseada, para posteriormente leer el resultado macroscópica y microscópicamente, buscando aglutinación.

Prueba en albúmina

Las pruebas con albúmina tienen como fin el descubrir anticuerpos de tipo IgG que son demasiado pequeños para causar la aglutinación directa de los hematíes suspendidos en solución salina. El mecanismo de acción de la albúmina es incrementar la constante dieléctrica y disminuir el potencial zeta para favorecer la aglutinación. El método de la prueba en albúmina consiste, en colocar 4 gotas de suero del receptor y una gota de la solución de hematíes al 3-5%, y 2-3 gotas de albúmina bovina y se realiza la incubación a 37° C durante 15-60 minutos, para posteriormente leer el resultado macroscópica y microscópicamente.

Prueba con enzimas proteolíticas.

Las cargas negativas de los glóbulos rojos los mantienen separados. Este fenómeno se debe a la presencia de ácido neuramínico en la superficie de las células. Algunas enzimas remueven parte de este ácido, disminuyendo la carga negativa. Por tanto, los eritrocitos se aproximan y los anticuerpos IgG pueden aglutinarlos.

Las enzimas proteolíticas utilizadas en la detección de anticuerpos son: la papaína, la ficina, la bromelina, y la tripsina; siendo la ficina y la papaína las más sensibles y eficaces en la detección de anticuerpos de tipo IgG. La prueba se realiza incubando a 37° C durante 15 minutos, 2 gotas de suero del receptor con una gota de hematíes al 3-5% y dos gotas de la enzima elegida, centrifugar y posteriormente leer el resultado macroscópica y microscópicamente.

Prueba de antiglobulina o Coombs.

Todas las moléculas de anticuerpos son globulinas. Estas globulinas humanas son inyectadas a animales para que fabriquen anticuerpos contra esas proteínas. El suero del animal es sometido luego a procedimientos de adsorción para eliminar las aglutininas indeseadas. Este suero tendrá la capacidad de reaccionar específicamente contra globulinas humanas, por lo tanto, se denomina suero de antiglobulina humana (AGH).

Existen dos modalidades de la prueba de antiglobulina:

La prueba de antiglobulina directa o Coombs directo se utiliza para demostrar el recubrimiento de eritrocitos con anticuerpos principalmente IgG y C3. El método consiste en lavar bien los hematíes de un paciente o donador y agregar dos gotas de suero poliespecífico de AGH, centrifugar y leer macroscópicamente en busca de aglutinación

La prueba de Coombs indirecto consiste en incubar 2-4 gotas de suero con 1gota de solución de hematíes al 3-5%, a 37° C durante 15-60 minutos. Después se hace un lavado para remover las globulinas no unidas. Se añaden 2 gotas de AGH y se procede a la centrifugación y lectura macroscópica en busca de aglutinación, y en caso de ser negativa se realiza una lectura microscópica. La presencia de aglutinación indica que el anticuerpo se ha unido a un antígeno específico presente sobre el eritrocito.

Además de las pruebas anteriormente descritas existen otras técnicas cuyo fin es potenciar la reactividad de un anticuerpo para poder ser detectado e identificado. Entre los medios o soluciones potenciadoras destacan:

Polietilenglicol.

Es un polímero soluble en agua y no tóxico. Es una de las soluciones potenciadoras más utilizadas en la actualidad en las reacciones antígeno-anticuerpo. Su acción consiste en la eliminación de agua, con lo que concentra los anticuerpos aumentando

la intensidad de su reacción. Suele utilizarse como complemento de otras técnicas para la detección de anticuerpos débiles, sobre todo los de tipo IgG.

Polibreno.

Es un polímero catiónico, que produce la agregación reversible de los hematíes, mediante la adición de citrato sódico. Si los hematíes están recubiertos por anticuerpos, la agregación producida por el polibreno no será revertida con la adición de citrato sódico.

Cuando se detecta un anticuerpo irregular en el suero de un individuo este debe identificarse para conocer su significado clínico, el procedimiento emplea un panel eritrocitario de fenotipo conocido. Mediante el uso de este panel pueden identificarse (entre otros) la existencia de anticuerpos anti-Fya y anti-Fyb. (Alfonso Valdés & Bencomo Hernández, 2001 y Arbeláez, 2009)

Los pasos del rastreo y tipificación de los anticuerpos irregulares son 3:

- **Rastreo de anticuerpos.** Únicamente se determina la ausencia o presencia de anticuerpos irregulares, sin saber el tipo. Se utilizan células panel para la detección de anticuerpos irregulares, el set comercial tiene 2 o 3 frascos (Las células I, II y III contienen antígenos para todos los anticuerpos irregulares).
- **Tipificación de anticuerpos irregulares.** En caso de dar positivo el rastreo de anticuerpos se realiza la tipificación del anticuerpo(s) presente(s) mediante un panel de células donde cada una de estas células contiene antígenos específicos para diferentes anticuerpos (el panel se compone generalmente de 8-11 frascos de células con diferentes especificidades antigénicas). La positividad o negatividad de la reacción en una sola célula no puede identificar ni descartar ningún anticuerpo.
- **Identificación del anticuerpo.** Cada anticuerpo presenta un patrón único de positividad ó negatividad para cada una de las células del panel, lo que permite su identificación.

(Rosales, 2008)

La tabla No. 3 muestra el comportamiento de los principales anticuerpos Duffy (anti-Fya y anti-fyb) ambos pueden ser detectados con albumina y mediante la prueba de Coombs indirecto. A pesar de que los antígenos Fya y Fyb suelen ser sensibles a la acción de proteasas, el uso de estas enzimas permite la identificación de los anticuerpos contra estos antígenos siempre y cuando los eritrocitos no sean tratados con concentraciones inapropiadas de enzimas proteolíticas.

Tabla No. 3. Comportamiento serológico de anti-Fya y anti-Fyb.

Anticuerpo	Hemólisis <i>in vitro</i>	Salina		Albumina		Enzimas	
		4°C	22 °C	37 °C	AGH	37° C	AGH
Anti-Fya	Positivo	No reacciona	Raro	Mayoría	positivo	Positivo	Positivo
Anti-Fyb	Positivo	No reacciona	Raro	Mayoría	positivo	positivo	Mayoría*

*66% de los anticuerpos tienen reacción alta y el 33% leve
(Tomada y editada de Rosales, 2008)

Estas técnicas nos lleva a buscar por diferentes caminos específicamente los hemoderivados requeridos que sean compatibles, ya que se deberán identificar: los anticuerpos irregulares encontrados en el suero, los unidos a los eritrocitos, así como el fenotipo eritrocitario del paciente, teniendo mayor cuidado en la compatibilidad de los antígenos de los sistemas Rh, Kell, Duffy, Diego, Kidd y Ss, implicados con mayor frecuencia en las reacciones transfusionales en la población mestiza mexicana. (Alcaraz-López, 2005)

La frecuencia con que se presentan los anticuerpos irregulares no se puede extender a la población en general ya que estos datos son característicos de cada banco de sangre, tanto por el tipo de población en estudio como por las técnicas que se utilizan para el rastreo de los anticuerpos. Por ejemplo, se sabe que para la población atendida en el Instituto Nacional de Cancerología predominan los anticuerpos anti-E, anti-Di, anti-k anti-e y anti-c y anti-Fya -en ese orden- mientras que en el Centro

Médico Nacional Siglo XXI predominan anti-E, anti-c, anti-K, anti-D, anti-Jka y anti-Fya. (Díaz, 2011)

En la actualidad, en la mayoría de los bancos de sangre, no realiza el rastreo y la tipificación de anticuerpos irregulares en el plasma de todos los receptores sanguíneos, sino que únicamente en pacientes que presentan incompatibilidad con alguna unidad sanguínea específica. Por lo tanto, el rastreo y la tipificación de anticuerpos irregulares no son procedimientos de rutina para los pacientes que se han de transfundir.

7. Prevalencia en la población

La distribución de las variantes del sistema de grupos sanguíneos Duffy ha sido de interés debido a su relación con la patología de enfermedades tanto no transmisibles como infecciosas, entre las que destaca la infección por *Plasmodium vivax*. (Howes, et al., 2011)

La diversidad en la distribución de los determinantes antigénicos Duffy en diferentes grupos étnicos es una característica de este sistema de grupos sanguíneos. Por ejemplo, Fya es prevalente en europeos, chinos, japoneses y algunas poblaciones de malasia, pero es raro en poblaciones africanas. Por otra parte, Fyb es ampliamente encontrado en caucásicos, comparado con las poblaciones asiáticas y africanas. (Oliveira, Mattos & Cavasini, 2011)

La tabla No. 4 muestra la frecuencia de Fya, Fyb, Fy3 y F6 en algunas poblaciones, se observa que los antígenos Fya y Fyb son relativamente frecuentes en caucásicos (Fya 66% y Fyb 83%) y asiáticos (Fya 99% y Fyb 18.5%) pero son mucho menos comunes en personas de ascendencia Africana (Fya 10% y Fyb 23%). (Lomas & Reid, 2012)

Tabla No 4. Frecuencia de los antígenos Fya, Fyb, Fy3 y Fy6 en algunas poblaciones.

	Fya	Fyb	Fy3	Fy6
Caucásicos	66%	83%	100%	100%
Africanos	10%	23%	32%	32%
Asiáticos	99%	18.5%	99.9%	100%

(Lomas & Reid, 2012)

Howes y colaboradores lograron elaborar una base de datos de los fenotipos y genotipos del sistema Duffy, utilizando 821 encuestas comunitarias a partir de las cuales desarrollaron un modelo geoestadístico para generar mapas de frecuencia

global para los principales grupos sanguíneos del sistema Duffy, así como el primer mapa del fenotipo Duffy-negativo. Las imágenes No. 10, 11 y 12 muestran la frecuencia y distribución mundial de Fya, Fyb, y Fy (a-b-) respectivamente.

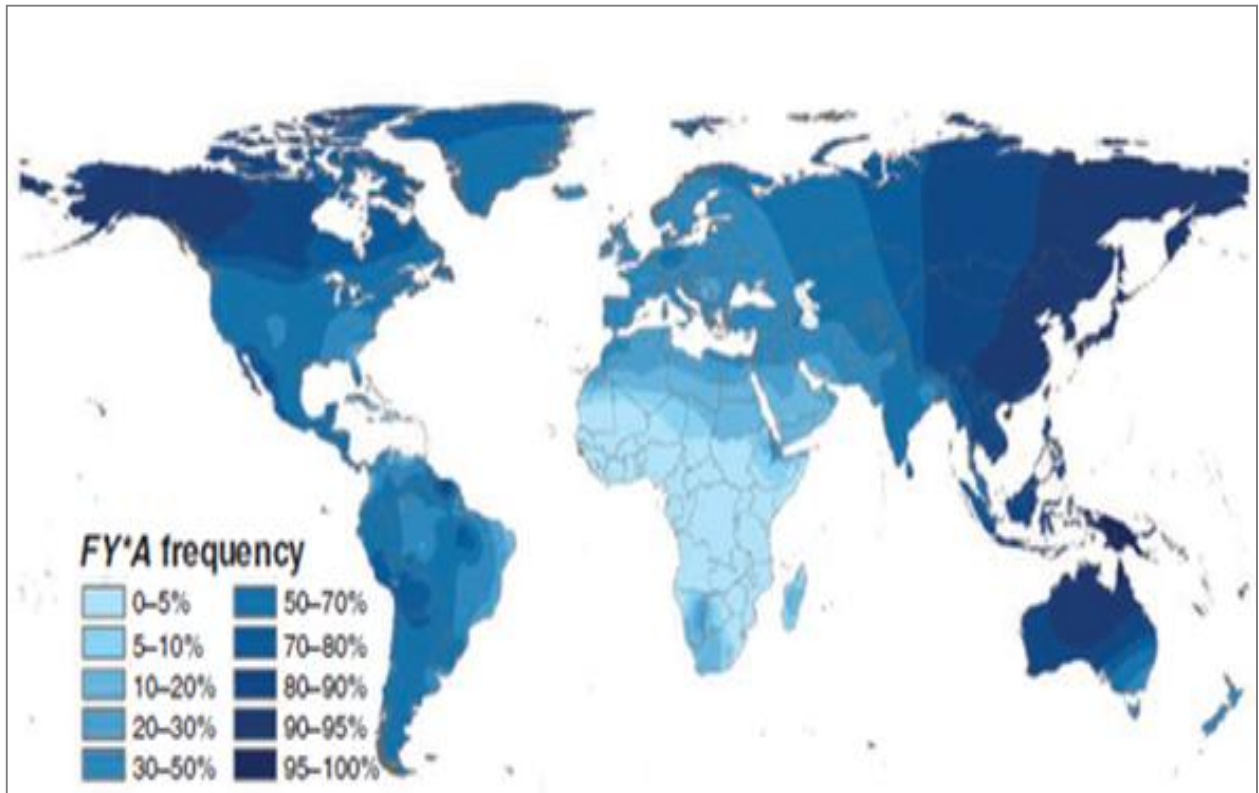


Imagen No. 10. Frecuencia global de Fya. (Tomada de Howes, et al., 2011)

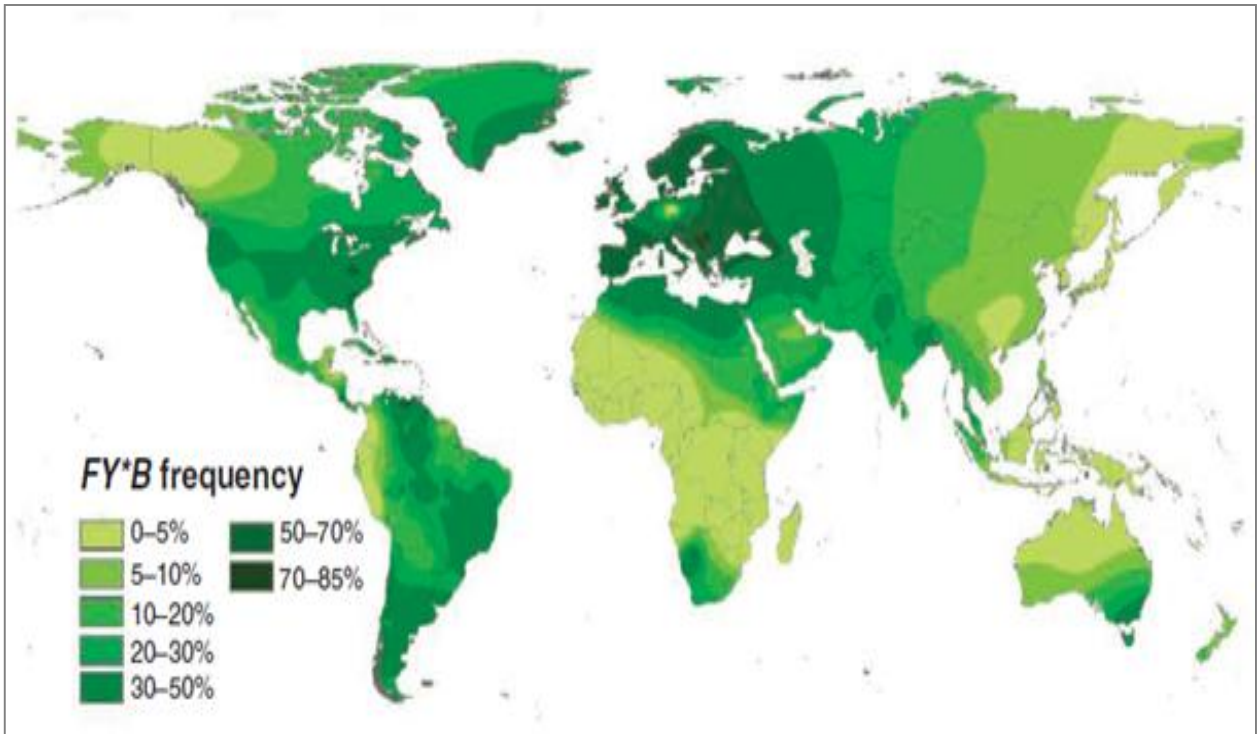


Imagen No. 11. Frecuencia global de Fyb. (Tomada de Howes, et al., 2011)

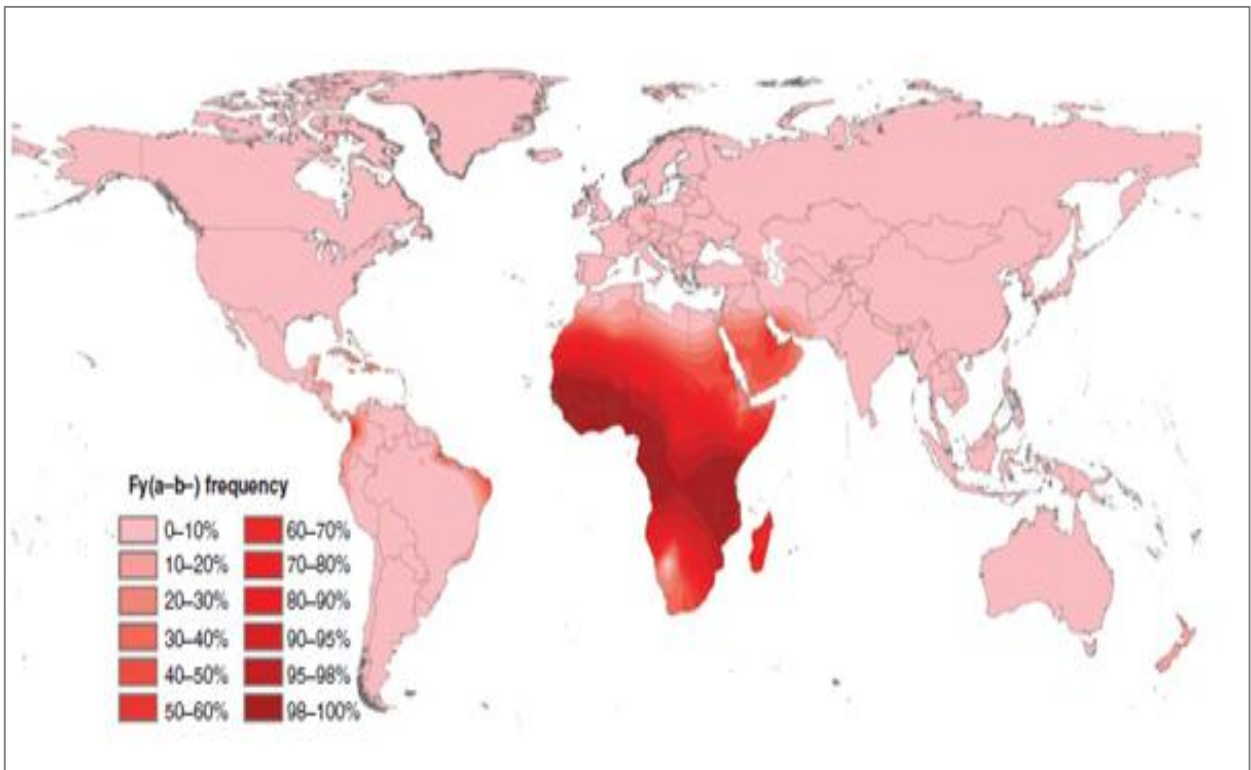


Imagen No. 12. Frecuencia global de Fy(a-b-). (Tomada de Howes, et al., 2011)

El fenotipo Duffy negativo es el prevalente en africanos y afroamericanos. El predominio del fenotipo Fy (a-b-) en África sostiene la hipótesis de una adaptación genética. Como consecuencia de esta selección genética, más del 95% de los individuos en el oeste de África son Duffy negativos y *P. vivax* está desapareciendo. Sin embargo, en la mayor parte de Europa, Asia y otras regiones no endémicas de la infección por *P. vivax* el fenotipo Fy (a- b-) no es tan común. Lo cual puede observarse en la imagen No.12.

En el año 2007, Cordero C. E. Identificó los antígenos eritrocitarios de los sistemas Kell, Diego, Kidd y Duffy, evaluando a 1001 sujetos en el Banco de Sangre del Hospital Médica Sur mediante técnicas de hemaglutinación. Se encontró que la frecuencia para los fenotipos Duffy: Fy (a+b+), Fy (a+b-) Fy (a-b+) y Fy (a-b-) es de 25.6, 52.6, 14.9 y 6.6% respectivamente. Lo cual revela una prevalencia mayor del antígeno Fya (más de la mitad de la población estudiada lo expresa) con respecto a Fyb. (Cordero, 2007)

Otro estudio realizado por Arreygue M. en el año 2011 determinó los alelos principales de los grupos sanguíneos Duffy y Diego en una muestra de la población residente de la Ciudad de México y área conurbada. Se estudiaron 403 individuos para el grupo sanguíneo Duffy, la frecuencia fenotípica encontrada para Fy (a+b-), (Fya+b+), (Fya-b+) y (Fya-b-) fue de 36.7, 43.5, 17.1 y 2.7 %, respectivamente, mientras que para los alelos FY*A, FY*B, FY*0 y FY*X las frecuencias fueron 54.3, 41.9, 2.6 y 1.2 %, respectivamente. Para el sistema Duffy la población estudiada es más parecida a los caucásicos que a los individuos de origen negro africano, por la mayor frecuencia del alelo FY*A.

Los mapas de frecuencia muestran que en nuestro país la frecuencia de los alelos FY*A, FY*B y del fenotipo (Fya-b-) es aproximadamente de entre 50-70%, 20-30% y del 0 -10% respectivamente. Lo cual corresponde con los mapas excepto en lo referente a FY*B. (Arreygue, 2011)

En general la frecuencia fenotípica obtenida para los grupos sanguíneos y en particular del sistema Duffy, varía de acuerdo con el tipo de población y las

condiciones del estudio, especialmente en poblaciones mestizas como las que predominan en Latinoamérica.

8. Importancia Clínica del Sistema Duffy

Recientemente ha habido grandes progresos en el entendimiento de la función de los antígenos de los grupos sanguíneos expresados tanto en células hemáticas como en tejidos no hemáticos. En este sentido el sistema de grupos sanguíneos Duffy es de particular interés tanto fisiológico como transfusional, ya que sus antígenos se han asociado con múltiples enfermedades.

Los receptores DARC están potencialmente relacionados con la angiogénesis de algunos tumores, pre eclampsia e hipertensión. (Bonifacio & Novaretti, 2009)

Algunos estudios han demostrado que los receptores DARC están envueltos en la angiogenesis tumoral que tiene como característica la rápida respuesta del sistema vascular con un aumento de las necesidades metabólicas del tejido tumoral, aumentando la microvascularización y el reclutamiento de células progenitoras endoteliales. En cada una de las etapas de la angiogénesis los mecanismos exactos permanecen ocultos. Entre tanto, quimiocinas CXC, como a IL-8 han demostrado tener un papel importante en este proceso. (Strieter, et al., 2004)

La incidencia de cáncer de próstata en afroamericanos es 60% mayor que la encontrada en caucásicos, con una tasa de mortalidad diez veces más elevada. Dada la importancia de las quimiocinas angiogénicas en el desarrollo de la red vascular tumoral y la alta afinidad de DARC por la IL-8. Es posible que la ausencia de DARC eritroide en los hombres afroamericanos pueda ser considerado como un factor genético de predisposición en la incidencia y mortalidad en casos de cáncer de próstata. Debido a que DARC puede disminuir las quimiocinas en exceso que participan en la angiogénesis y en consecuencia en la progresión del cáncer. (Smolarek, et al., 2010)

Se ha visto que la expresión de los antígenos Duffy esta aumentada en los lechos vasculares y los alvéolos durante el cuadro de neumonía supurativa, lo que sugiere

que estos antígenos tienen un papel funcional en el parénquima pulmonar durante el proceso inflamatorio. (Jens, Novaretti & Pagliarini, 2005)

La expresión de DARC en células pulmonares cancerosas posiblemente está asociada con una disminución de la vascularización tumoral y una reducción en la metástasis potencial. (Oliveira, Mattos & Cavasini, 2011)

Por otro lado, la expresión de DARC en células tumorales de cáncer de mama se asocia con menor metástasis y agresividad del tumor. De nuevo, la interacción de este receptor con las quimiocinas podría explicar el posible papel de DARC en la progresión del cáncer, ya que las quimiocinas están obviamente implicadas en la neovascularización tumoral. (Smolarek, et al., 2010)

Estudios sobre la regulación de DARC en los tejidos renales (capilares glomerulares, células epiteliales e intersticiales del conducto colector) de niños con nefropatía por VIH y síndrome hemolítico urémico, sugieren que DARC puede desempeñar un papel relevante en la patogénesis de la inflamación. La regulación de DARC también se ha observado en las células endoteliales en sitios de inflamación durante el rechazo agudo de trasplante renal y glomerulonefritis. Por otra parte, de forma paralela se ha visto un aumento de leucocitos infiltrantes CCR5 positivos (CCR5 y DARC comparten RANTES como ligando) lo que plantea que las quimiocinas pueden ser presentadas por DARC en la superficie del endotelio activado en las vénulas postglomerulares y, por lo tanto, participan en la adhesión y trans migración de células CCR5 positivas. Además, DARC se expresa en vénulas grandes y algunas arterias de pacientes con rechazo de trasplante renal, mientras que estas estructuras normalmente no expresan a DARC. (Cartron & Colin, 2001)

8.1. Importancia en el banco de sangre

La terapia transfusional es uno de los mayores logros de la medicina moderna, ha permitido disminuir la mortalidad y mejorar la calidad de vida de muchas personas con diferentes trastornos.

Se entiende por terapia transfusional, la restitución de sangre o de alguno de sus componentes por productos similares de origen humano obtenidos y conservados mediante procedimientos apropiados. Existen principalmente 3 situaciones clínicas en las que está indicada la terapia transfusional:

- Para mantener o restaurar un volumen adecuado de sangre circulante con el fin de tratar o prevenir el shock hipovolemico.
- Para mantener y restaurar la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre.
- Para reponer componentes específicos de la sangre, como proteínas plasmáticas o elementos celulares (glóbulos rojos, plaquetas o leucocitos) cuyo déficit produce manifestaciones clínicas.

(Ruiz de Adana & Elipe, 2015)

Las reacciones inmunológicas constituyen en la actualidad el principal riesgo relacionado con la transfusión sanguínea, ya que, debido a las nuevas técnicas de detección de agentes infecciosos, el riesgo bacteriano o viral es inferior al inmunológico.

Evitar un conflicto antígeno-anticuerpo constituye un elemento básico de la seguridad y de la prevención de los accidentes inmunológicos transfusionales. Que suelen estar relacionados con un conflicto entre los anticuerpos del receptor y los antígenos del donante y en menos ocasiones entre los anticuerpos del donante y los antígenos del receptor. En algunos accidentes interviene la inmunidad celular. Puede tratarse de accidentes hemolíticos o de accidentes inmunológicos más difíciles de prever: reacciones febriles no hemolíticas, accidentes alérgicos, lesión pulmonar aguda por transfusión (TRALI), enfermedad de injerto contra huésped (EICH). (Souled & Morin, 2011)

Los anticuerpos Duffy (anti Fya, Fyb, Fy3 y Fy5) son clínicamente significativos en la práctica transfusional, pues han mostrado ser responsables de reacciones hemolíticas transfusionales.

Anti-Fya y anti-Fyb pueden causar reacciones adversas que varían de naturaleza leve a severa y pueden ocurrir inmediatamente después de la transfusión (rara vez) o más comúnmente, de manera tardía anti-Fy3 y anti-Fy5 son causa de reacciones transfusionales tardías de leves a moderadas. (Castillo, 2013)

La reacción hemolítica tardía (extravascular) se debe a la presencia de antígenos en los eritrocitos del donante que no están presentes en los del receptor. Los antígenos más frecuentemente involucrados son los del sistema Rh, aunque también se incluyen los sistemas Duffy, Kell y Kidd. Una vez transfundida la sangre incompatible, el receptor fabrica IgG en el curso de 1 a 2 semanas, las cuales cubren los eritrocitos que fueron transfundidos, siendo removidos por el sistema fagocítico mononuclear (Vázquez, Vassallo & Storino, 2002)

Los eritrocitos recubiertos de IgG (IgG1 o IgG3) se adhieren a los receptores Fc de los macrófagos o de los linfocitos y se destruyen por citotoxicidad (enzimas lisosómicas liberadas por los macrófagos) o por fagocitosis. Algunas IgG fijan el complemento, como las anti-Fya, pero solo lo activan hasta C3, por lo que no provocan hemólisis inmediata, pero facilitan la adherencia del eritrocito a los receptores del complemento sobre las células mononucleadas y su fagocitosis intrahepática.

La reacción hemolítica inmediata en la mayoría de los casos es extravascular (hígado y bazo) o, en ocasiones, intravascular. La hemólisis aguda intravascular es la más grave, suele tratarse de un accidente grave por incompatibilidad el grupo ABO. Otros anticuerpos que causan hemólisis intravascular incluyen anti-Duffy y anti-Lewis y los anticuerpos implicados son de tipo natural clase IgM.

La destrucción de los eritrocitos es inmediata y muy sintomática. La fijación del complemento y su activación hasta C9 provoca la lisis de los eritrocitos por lesión de su membrana celular. (Souled & Morin, 2011)

8.1.1. Caso clínico

Presentación del caso

Paciente femenina de 73 años de edad, con fractura de cadera, historia de alergia a la penicilina y anemia (hemoglobina: 7.4 g/dl): requiere ser transfundida y las pruebas cruzadas resultaron incompatibles, por lo que el caso fue referido al Banco de Sangre del Hospital Nacional de Niños para la identificación de anticuerpos; al utilizar un panel comercial de eritrocitos para determinar la especificidad del anticuerpo, se encontró un anti Fya con un título 1/8.

La paciente de este reporte fue transfundida con sangre tipo Fya (-) sin problemas.

Materiales y métodos

Se procede a identificar la especificidad del anticuerpo de una muestra de suero referida de un hospital rural de una paciente de 73 años, politransfundida. La identificación se realizó por medio de determinación de Coombs indirecto con una serie de suspensiones de eritrocitos comerciales al 5% de fenotipo sanguíneo conocido. Además, se repitieron estas determinaciones añadiendo bromelina al 2% para verificar la especificidad. Se procedió a fenotipar 12 unidades de sangre para el antígeno Fya y las negativas fueron utilizadas para el estudio del suero de la paciente.

Discusión

El anti-Fya es el resultado de la exposición previa al antígeno presente en los glóbulos rojos. Se ha descrito el antígeno Fya como un problema inmunogénico, ya que a pesar de presentarse en el 66% de las personas caucásicas, el anti-Fya es encontrado solamente en un pequeño porcentaje de pacientes transfundidos. Sin embargo, su interferencia en las pruebas de compatibilidad en un banco de sangre, causa retrasos y confusiones, y la transfusión de sangre con el antígeno puede causar fuertes reacciones hemolíticas. (Esquivel & Contreras, 1997)

El Coombs indirecto se usa para detectar si hay anticuerpos IgG en el suero del paciente contra los eritrocitos. El suero del paciente se incubó con el reactivo con

eritrocitos. Posteriormente se agrega el suero de Coombs (que contiene anticuerpos anti-IgG). Si hay aloanticuerpos contra los eritrocitos, se presenta aglutinación y la prueba es positiva ya que como se menciona en el capítulo 6 la mayoría de los anticuerpos anti-Fya pueden ser detectados por la prueba de Coombs indirecto y con el uso de enzimas siempre y cuando se usen en concentraciones apropiadas.

Para fines transfusionales se recomienda que cuando se identifiquen en la sangre de los pacientes anticuerpos anti-Duffy, se seleccione sangre antígeno-negativa. En los casos anti-Fy3 y anti-Fy5 se recomienda seleccionar sangre fenotipo Fy (a-b-). (Jens, Novaretti, & Pagliarini, 2005)

En 1973 Colledge observo que anti-Fy5 reaccionaba con los glóbulos rojos Fy (a +) o Fy (b +) del tipo Rh positivo, pero no con células Fy (a- b-) de personas de raza negra, o con células Rh negativas (Colledge, Pezzulich & Marsh, 1973). Si bien este es el único reporte que se tiene al respecto, es importante mencionarlo, para tenerlo en cuenta cuando se detecten anticuerpos contra este sistema.

8.2. Enfermedad hemolítica del recién nacido.

La enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) es una situación patológica en la cual se acorta el tiempo de vida de los hematíes fetales y del recién nacido, debido a la acción de anticuerpos específicos derivados de la madre y transferidos por vía placentaria. Son específicos contra los antígenos de origen paterno presentes en los eritrocitos fetales y del recién nacido, causando hemólisis de grado variable. (Cruz López, 2009)

La EHRN obedece a un fenómeno de inmunización materna por antígenos de grupo eritrocitario, procedentes del feto (aloinmunización). En la EHRN los eritrocitos fetales son destruidos por anticuerpos maternos generados durante el embarazo por incompatibilidad feto-materna.

Habitualmente la placenta es impermeable al paso de células sanguíneas y de macro globulinas (IgM) pero no de globulinas de bajo peso molecular (IgG). No obstante, durante el embarazo son frecuentes pequeñas hemorragias que facilitan la entrada de eritrocitos fetales a la circulación materna. Como consecuencia de ello, si los eritrocitos fetales poseen grupos sanguíneos no presentes en la madre, ésta se sensibiliza y genera una elevada concentración de anticuerpos (aloanticuerpos) a partir del segundo embarazo. En este caso de inmunización, esta se produce en dos etapas: primaria y secundaria.

La inmunización primaria tiene, en general, escasa trascendencia sobre el feto. El problema surge cuando en un segundo embarazo existe también incompatibilidad feto-materna ya que en este caso se produce una inmunización secundaria caracterizada por un desarrollo mucho más rápido y la formación elevada de IgG. Es precisamente esta segunda inmunización la que favorece la EHRN.

Las consecuencias fisiopatológicas dependen del grado de inmunización materna, aunque en general suelen ser graves dando como consecuencia anemia hemolítica e hiperbilirrubinemia, esta última tiende a depositarse en diferentes tejidos especialmente en el SNC provocando trastornos patológicos graves. (Vives, et al., 2006)

El anti-Fya causa enfermedad hemolítica del recién nacido leve y rara vez, puede ocurrir de tipo severa. Se considera que títulos 1:64 de anti-Fya maternos, debieran ser considerados de alto riesgo fetal y neonatal. Por otra parte, anti-Fyb y anti-Fy3 son causas poco frecuentes de EHRN leve. (Castillo, 2013 y Cordero, 2007)

8.2.1 Caso clínico

Presentación del caso

Mujer de 18 años con antecedente de 3 embarazos (2 partos y un aborto), grupo sanguíneo O y Rh positivo, sin antecedentes transfusionales. Después de 41.4 semanas de gestación, tuvo un recién nacido (RN) femenino, valoración de Apgar 9

al minuto y 9 al quinto minuto, con un peso de 3120 gramos. Al nacimiento la RN presento ligera coloración amarilla en cara y parte superior del tronco. Se indicó estudio de la ictericia por posible conflicto ABO materno-neonatal y se colocó a la paciente en fototerapia.

A las 3 horas de nacida se notifica que la RN es de grupo B y Rh positivo, con cifras de hemoglobina (Hb) de 20.5 g/dL, bilirrubina total 7.18 mg/dL, bilirrubina indirecta 6.56 mg/dL y una prueba de Coombs Directa (CD) positiva.

A las 12 horas la neonato presentó caída de las cifras de Hb a 13.8 g/dl y aumento de las cifras de bilirrubina total a 10.96 mg/dL y de bilirrubina indirecta a 10.09 mg/dL. Se realizó una transfusión con concentrado de eritrocitos O positivos mezclados con plasma B y se tuvo en cuenta las cifras de bilirrubina indirecta.

Se recibieron los restantes estudios inmunohematológicos unas horas más tarde, los que confirmaron el grupo ABO materno e informaron que no existía enfermedad hemolítica de RN por incompatibilidad ABO porque el título de IgG anti-B materno era menor de 1:64, se informó prueba de Coombs indirecta (CI) positiva y reactividad del suero materno frente a panel eritrocitario, determinándose un aloanticuerpo con especificidad anti-Fya, dicha especificidad fue confirmada por el fenotipaje de los eritrocitos maternos y del neonato, lo que demostró la ausencia del antígeno Fya en los eritrocitos maternos y su presencia en los eritrocitos neonatales.

Por la progresión del cuadro clínico del RN a las 27 horas, se realizó una segunda transfusión con eritrocitos O positivos mezclados con plasma B y carentes del antígeno eritrocitario Fya. Posteriormente a este procedimiento hemoterapéutico, las cifras de bilirrubina comenzaron a descender a partir de las 35 horas de nacido. Se decidió suspender la fototerapia después de las 72 horas por mejoría del cuadro clínico y disminución de las cifras de bilirrubina indirecta y total. El RN fue egresado a los 6 días de edad con cifras de Hb, de bilirrubina indirecta y total normales.

Discusión

La temprana aparición de la ictericia en el RN y el antecedente del grupo sanguíneo O en la madre hizo sospechar una posible EHRN-ABO, después de descartar otras

causas de ictericia precoz en el neonato. De inmediato se obtuvieron muestras del neonato y de la madre para el diagnóstico inmunohematológico de esta incompatibilidad de grupo sanguíneo y se inició tratamiento para el síndrome icterico.

Este tipo de incompatibilidad materno-neonatal puede ocurrir debido a que el sistema ABO tiene una característica especial y es que, además, este antígeno presenta anticuerpos de las clases IgM e IgG; estos últimos permiten que esta enfermedad pueda manifestarse desde la primera gestación ABO incompatible. Cuando esto ocurre, por lo general el CD en el neonato es negativo.

Muchos investigadores coinciden en plantear que en la EHRN-ABO, los neonatos que presentan un CD positivo generalmente se asocian a madres cuyo título de anticuerpos IgG anti A/B en suero es alto, o sea, mayor o igual a 256. En este caso el neonato presentó una prueba de CD positiva, sin embargo, el título de IgG anti-B materno fue menor de 64, un valor igual o mayor a esta cifra ha sido establecido en el laboratorio para el diagnóstico de esta entidad. Esto descarta la existencia de EHRN-ABO en este RN.

A las 12 horas de edad el neonato presentó caída de las cifras de Hb a 13.8 g/dL y aumento de las cifras de bilirrubina total a 10.96 mg/dL y de bilirrubina indirecta a 10.09 mg/dL. Se decidió realizar una transfusión para lo cual se utilizó concentrado de eritrocitos O negativos mezclados con plasma de igual grupo ABO del RN.

A pesar del procedimiento hemoterapéutico, el estado clínico del neonato no varió y se comenzó a pensar en la posibilidad de que otro grupo sanguíneo estuviera involucrado en el conflicto materno-neonatal. Se recibió del laboratorio el diagnóstico de EHRN por incompatibilidad Fya entre la madre y el RN, avalado por pruebas inmunohematológicas. Se realizó una segunda transfusión, esta vez se utilizó iguales componentes sanguíneos pero carentes del antígeno Fya. Esto permitió que la sangre transfundida no fuera hemolizada por los macrófagos del hígado y bazo del RN.

En el feto los antígenos Fy pueden ser detectados a las 6 o 7 semanas de gestación y están bien desarrollados al nacimiento. A pesar de su temprana expresión la

enfermedad hemolítica por incompatibilidad de grupo sanguíneo Fy no es usual y puede no ser rutinariamente prevenida. Esto se debe a la inmunogenicidad moderada de los antígenos Fy. Aunque la EHRN-Fy^a suele ser moderada, se debe estar alerta ante la ocurrencia de un conflicto con un curso inusual y brindar un tratamiento óptimo en el momento adecuado para disminuir la morbilidad. (Alfonso Dávila, et al., 2008)

8.3. Relación con la enfermedad por *Plasmodium*

Los antígenos del sistema sanguíneo Duffy, además de incompatibilidades en transfusiones y enfermedad hemolítica del recién nacido, son de gran interés en la medicina debido a su asociación con la invasión de los glóbulos rojos por el parásito *Plasmodium vivax*.

La malaria, también conocida como paludismo, es una de las enfermedades parasitarias más importantes entre las poblaciones de países tropicales y subtropicales del mundo. El agente etiológico, *Plasmodium sp.*, fue identificado por primera vez en 1880 por Charles Alphonse. La enfermedad se transmite a través de la picadura de las hembras del mosquito *Anopheles* infectadas. (Carvalho, 2011)

Solo cuatro especies de *Plasmodium*: *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* y *P. falciparum* infectan seres humanos. *P. vivax* y *P. ovale* producen el paludismo terciario benigno, llamado así porque los pacientes presentan fiebres cada tres días, *P. falciparum* es causa del paludismo terciario maligno, llamado así por la gravedad de los síntomas y la alta mortalidad de esta infección, mientras que en las infecciones con *P. malariae*, las fiebres se presentan cada cuatro días. La periodicidad de la fiebre se debe a la sincronía del ciclo sexual de desarrollo de los parásitos en los glóbulos rojos. (Flisser Steinbruch & Pérez Tamayo, 2006)

Los signos y síntomas clínicos más característicos de la malaria son fiebre, escalofríos, sudoración y anemia, así como dolores de cabeza, mialgia, malestar y

debilidad y en casos severos, la afectación visceral (esplenomegalia y hepatomegalia). (Carvalho, 2011)

El ciclo de vida del parásito de la malaria es complejo (imagen No.13), primero el hospedero humano es infectado por esporozoítos (también llamados esporocitos) del *Plasmodium*, células pequeñas y alargadas que se producen en el mosquito, y que se localizan en las glándulas salivales del insecto. El mosquito inyecta saliva junto con los esporozoítos. Estos viajan a través del torrente sanguíneo hasta el hígado, donde pueden quedar de forma quiescente o crecer y replicarse dando lugar a una fase conocida como esquizonte (esquizogonia hepática). Los esquizontes se segmentan en un gran número de pequeñas células llamadas merozoitos; estas células se liberan del hígado en el torrente sanguíneo. Algunos de los merozoitos infectan los glóbulos rojos y se multiplican en su interior (esquizogonia eritrocítica) pasando por diferentes formas llamadas: anillo, trofozoito, esquizonte inmaduro y esquizonte maduro. El ciclo en los eritrocitos procede como en el hígado y habitualmente se repite en ciclos cada 48 horas en el caso de *P. vivax*. Es durante este periodo cuando aparecen los síntomas de la malaria.

No todos los protozoos liberados de los eritrocitos son capaces de infectar otros glóbulos rojos, aquéllos que no son capaces se les conocen como gametocitos, y son infectivos exclusivamente para el mosquito. Estos gametocitos son ingeridos cuando otro *Anopheles* pica a la persona infectada y maduran en el mosquito produciendo gametos. Dos gametos se fusionan dando lugar a un cigoto; que migra gracias a movimientos ameboides a la placa externa del intestino del mosquito donde se agranda y forma una gran cantidad de esporocitos. Estos son liberados y algunos llegan a las glándulas salivares desde donde pueden ser inoculados a otra persona, comenzando el ciclo de nuevo. (Madigan, Martinko, & Parker, 2003 y Spencer, Gómez & Collovini, 2016)

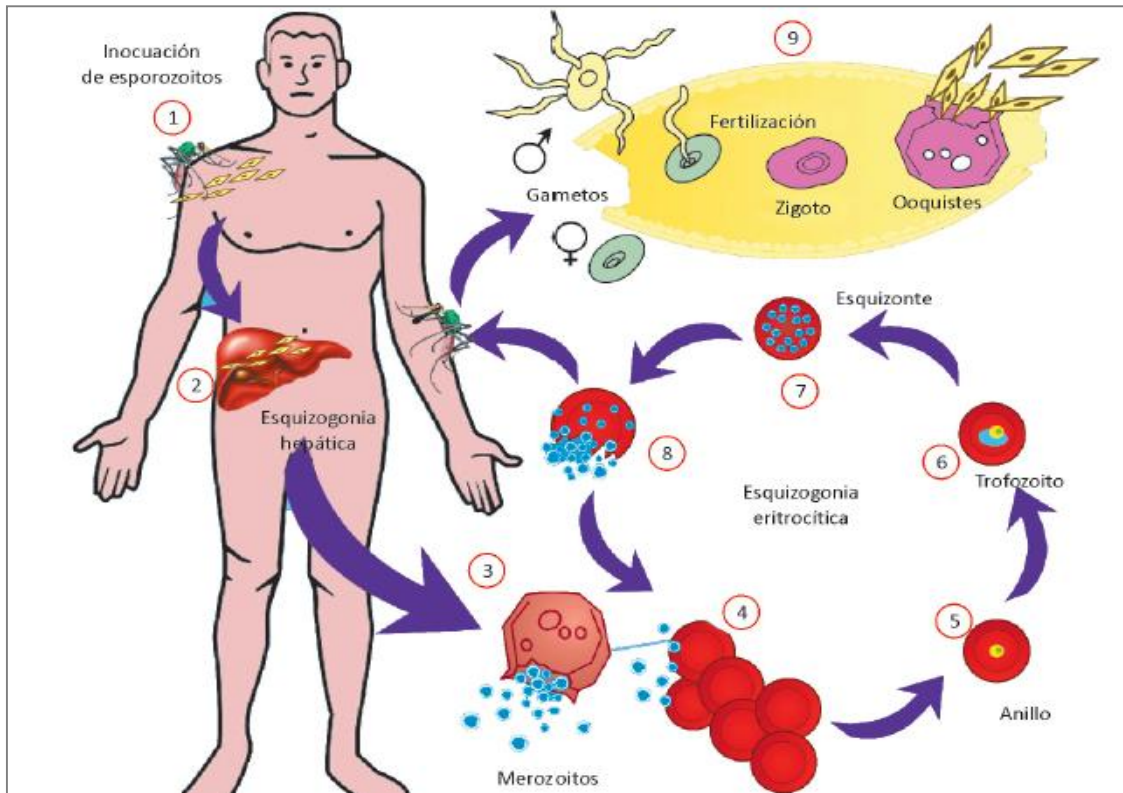


Imagen No. 13. Ciclo de vida de *Plasmodium*.

(Tomada de Spencer, Gómez & Collovin, 2016)

Plasmodium vivax, es la segunda especie de *Plasmodium* con mayor prevalencia en el mundo, infectando entre 80 y 90 millones de personas por año, aunque está ampliamente distribuido en los países tropicales, es prácticamente inexistente en África Central y Occidental. Esta ausencia se ha explicado por la falta del antígeno Duffy en la mayor parte de la población. *P. vivax* es endémico en algunas poblaciones de Sudán, Somalia y Etiopía que son predominantemente Duffy positivos. El antígeno Duffy, ha sido descrito como el receptor eritrocítico para *P. vivax* sin el cual no es posible la invasión del eritrocito por parte de este parásito. (Machado, et al., 2010)

La invasión de los eritrocitos por los merozoitos de *Plasmodium* comprende una interacción inicial reversible del merozoito con la superficie del eritrocito y la reorientación del merozoito, de manera que su extremo apical entre en contacto con el eritrocito. Durante este proceso ocurren interacciones moleculares específicas entre las células hospedadoras y el parásito. En varias especies del género

Plasmodium ha sido identificada una familia de antígenos de unión al eritrocito, en *P. vivax* se identificó la proteína de unión al grupo Duffy (PvDBP). Esta interactúa con el receptor del antígeno Duffy para quimiocinas (DARC) durante la invasión de los eritrocitos humanos. Se ha demostrado que cuando estos parásitos interactúan con eritrocitos que carecen de DARC, ocurre la interacción inicial y la reorientación apical del merozoito pero no se forma la unión entre este y el eritrocito, por lo tanto se aborta la invasión. (Herrera, Pérez & Serrano, 2010)

PvDBP está codificada por un solo gen presente en el genoma de *P. vivax*, se trata de una proteína de 140 Kda que es secretada desde los micronemas del merozoito a la superficie del mismo durante el momento de la invasión. Su unión con el objetivo de los glóbulos rojos resulta en la formación de la estrecha unión que el parásito utiliza para penetrar en la célula hospedera. El dominio de unión del receptor se encuentra en la región rica en cisteína II de la PvDBP (PvDBPII) entre los aminoácidos en las posiciones 291 y 460. El sitio de unión para esta región se correlaciona con los aminoácidos residuales Ala8-Asp42 en la región extracelular N-terminal del antígeno Duffy. (Mercereau-Puijalon & Ménard, 2010)

En 1975, Miller et al. observaron que los eritrocitos Duffy negativos son resistentes a la invasión de *Plasmodium knowlesi*, parásito responsable de malaria en monos y que en raros casos puede infectar humanos. Además observó que anti-Fya y anti-Fyb bloquean la invasión de *P. knowlesi* en los eritrocitos Fy (a+b-) y Fy (a-b+) respectivamente y el tratamiento de los eritrocitos con enzimas que eliminan de su superficie los determinantes antigénicos Fya y Fyb (quimiotripsina y pronasa) produce hematíes resistentes a la invasión.

En humanos la presencia o ausencia de Fy6 se relaciona con la presencia o ausencia de Fya y Fyb. En otras palabras, células Fy (a+) o Fy (b+) son siempre Fy6 positivas y las células Fy (a-b-) son Fy6 negativas. La invasión de células Fya+ puede ser parcialmente bloqueada por la interacción del eritrocito con anti-Fya y totalmente bloqueada al cubrir el eritrocito con anti-Fy6, lo cual sugiere que los sitios de unión de PvDBP se relaciona con los determinantes antigénicos de Fya, Fyb y Fy6. (Langhi & Bordin, 2005)

Un estudio realizado por Barnwell et al demostró *in vitro* que los merozoitos de *P. vivax* son incapaces de invadir eritrocitos que no expresen el antígeno Duffy. Más recientemente, Culleton et al, en un estudio en el que analizaron 2,588 muestras de sangre de nueve países de África, encontraron apenas una muestra infectada con *P. vivax* en un individuo con fenotipo Duffy positivo. Este estudio confirmó que esta especie de *Plasmodium* es prácticamente inexistente en África. (Barnwell, Nichols & Rubinstein, 1989 y Culleton, et al., 2008)

Estudios han demostrado que hay individuos Duffy negativos infectados con *P. vivax* en Brasil, pero también en África. Un estudio realizado en Kenia, con niños que estaban siendo analizados para un estudio caso control de malaria grave provocada por *P. falciparum*, confirmó la existencia de niños infectados con *P. vivax* aun siendo Duffy negativos. Resultados semejantes se encontraron en la región amazónica en Brasil, en donde también fueron detectados 8,687 individuos Duffy-negativos infectados con *P. vivax*, y también en otras localidades de África Occidental. (Machado, et al., 2010)

Recientemente, se encontraron individuos Duffy-null infectados con *P. vivax* tanto en África (Kenia, Madagascar, Mauritania, Camerún, Angola, Guinea Ecuatorial, Etiopía y Sudán) como en América del Sur. Lo que confirma que la falta de expresión del antígeno Duffy no confiere protección completa contra la adquisición de malaria. Estos datos sugieren que *P. vivax* puede estar evolucionando, usando receptores alternativos para conectarse e invadir el eritrocito.

Para determinar si las mutaciones en la PvDBP dan como resultado la capacidad de *P. vivax* de unirse a los eritrocitos Duffy-null, Karthigayan y colaboradores analizaron parásitos obtenidos de dos individuos Duffy-null que viven en Etiopía. Se determinó que *P. vivax* puede haberse adaptado para usar nuevos pares ligando-receptor independientes de PvDBP o bien que algunos africanos Duffy-negativos pueden expresar un bajo nivel de antígeno del grupo sanguíneo Duffy. (Karthigayan, et al., 2016)

9. Conclusiones

- Mediante este trabajo documental se lograron describir las características bioquímicas del sistema de grupos sanguíneos Duffy, puntualizando en las propiedades estructurales de la proteína Duffy, encontrando que se trata de una glicoproteína ácida transmembranal compuesta por 336 aminoácidos y que posee un dominio amino-terminal extracelular, tres bucles extracelulares, tres citoplasmáticos y un dominio carboxilo-terminal intracelular. En dicha proteína residen los determinantes antigénicos correspondientes a los antígenos de este sistema (Fya, Fyb, FY3, FY4, FY5 y FY6).
- Se identificó el patrón de herencia de este sistema (alelos múltiples) y los alelos responsables de los cinco fenotipos Duffy que son: Fy (a+ b-), Fy (a-b+), Fy (a+ b+), Fy (a-b-) y Fy (a-bw) así como los polimorfismos que presenta el gen Duffy.
- Se comprobó que existe una gran diversidad en la distribución de los antígenos Duffy en diferentes poblaciones, lo cual es una característica propia de este sistema. Destacando que el fenotipo Duffy negativo es el prevalente en africanos y afroamericanos, mientras que Fya es más frecuente en europeos, chinos, japoneses y algunas poblaciones de malasia, pero raro en poblaciones africanas y que Fyb es ampliamente encontrado en caucásicos, comparado con las poblaciones asiáticas y africanas. En cuanto a nuestro país existen pocos estudios referentes a este sistema, pero se sabe que en la población predomina Fya.
- Se destacó la importancia clínica de este sistema de grupos sanguíneos en el banco de sangre, principalmente de los anticuerpos producidos contra los antígenos Fya, Fyb, Fy3 y Fy5 (IgG1, IgG2 e IgM) ya que pueden producir reacciones adversas inmediatas y tardías que van de leves a severas además de producir la enfermedad hemolítica del recién nacido.

- Se evidencio el papel de la glicoproteína Duffy como receptor de *Plasmodium vivax*, destacando que su ausencia confiere una cierta protección contra la infección parasitaria, sin embargo, esta no es total ya que se han reportado casos de personas con fenotipo Fy (a-b-) infectadas.

10. Perspectivas

La clonación de los genes que controlan la expresión de los antígenos eritrocitarios ha permitido la caracterización estructural de esas moléculas y la evaluación de su expresión en diferentes tejidos, estos avances son de gran importancia para el entendimiento de muchos de los aspectos funcionales de los sistemas de grupos sanguíneos. Debido a la diversidad y complejidad de las posibles funciones inherentes a los antígenos, los grupos sanguíneos humanos constituyen un tema de gran interés no solo por su importancia transfusional sino también por otras posibles aplicaciones en áreas tales como antropología, genética, bioquímica, inmunología, trasplantes de órganos, evolución, entre otras. (Mattos, 2005)

En nuestro país, existen pocas investigaciones sobre este sistema e insuficientes datos estadísticos sobre la frecuencia de sus fenotipos y la prevalencia de los anticuerpos en las reacciones adversas a la transfusión. Sin embargo, la *NOM-253-SSA1-2012 para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos* señala en su apartado 9.5.5 que el rastreo de anticuerpos irregulares de importancia clínica y en su caso la identificación de estos, se deberá realizar en todos los donantes y receptores que tengan antecedentes propiciadores de aloinmunización. Lo cual permite identificar en la mayoría de los casos las incompatibilidades por anticuerpos Fya y Fyb que son los incluidos en la mayoría de los paneles eritrocitarios.

Ha habido grandes progresos en las investigaciones de este sistema, sin embargo, aún existen múltiples interrogantes sobre su papel en diversas enfermedades y el entendimiento de algunos de sus antígenos (principalmente Fy3, Fy4 y Fy5).

Los estudios realizados en las últimas décadas han puesto de manifiesto la complejidad del sistema Duffy en sus niveles fenotípicos y genotípicos. La ausencia de sus antígenos sobre los eritrocitos parece tener un impacto significativo en la distribución de las poblaciones humanas en las zonas donde la malaria es endémica. Sin embargo, la expresión de DARC en otros tejidos añade considerable complejidad

estructural y funcional de este sistema imputando un papel importante en la respuesta inflamatoria, el rechazo de aloinjertos, y posiblemente en histocompatibilidad. Por consiguiente, el sistema de Duffy es un sistema polimórfico que ofrece un gran reto para los investigadores no sólo por su importancia académica, sino también por las posibles aplicaciones en medicina. (Mattos, 2005)

11. Glosario

Aloanticuerpo. Anticuerpo producido por un individuo que está dirigido contra antígenos eritrocitarios de los que él carece, presentes en otro individuo de su misma especie.

Angiogénesis. Formación de vasos sanguíneos.

Antígeno. Sustancia que, introducida en un organismo animal induce una respuesta inmune, tal como la formación de anticuerpos.

Anticuerpo. Molécula de origen proteico producida en el organismo por la presencia de un antígeno, contra el cual reacciona específicamente.

Delección: Tipo de mutación genética en la cual se pierde material genético, desde un solo par de nucleótidos de DNA hasta todo un fragmento de cromosoma.

Determinante antigénico. Parte de la molécula del antígeno que se une a los anticuerpos.

Epítopo. Porción de un antígeno que es reconocida por una inmunoglobulina o un receptor de célula T.

Exón. Secuencia codificante de un gen (lo contrario se denomina intrón).

Fenotipo. Características observables de un organismo, estructurales y funcionales, determinadas por el genotipo y moduladas por el ambiente.

Gen. Unidad básica estructural y funcional de material hereditario. Secuencia ordenada de nucleótidos que codifica la síntesis de una cadena de polipéptido (traducción), o una secuencia reguladora que hace posible la traducción.

Genotipo. Constitución genética de un individuo respecto a un par de alelos que codifican para una característica.

Hemólisis. Liberación de la hemoglobina en el plasma por destrucción de los glóbulos rojos.

Inmunogénicidad. Capacidad de diferentes sustancias para desencadenar una respuesta inmunitaria adaptativa de tipo celular y humoral que a largo plazo constituye la memoria inmunológica.

Inmunogénico. Se dice de aquel antígeno capaz de generar una respuesta inmune. Un antígeno puede ser más o menos Inmunogénico que otro dependiendo si provoca más o menos respuesta inmune.

Locus. Lugar específico que ocupa un gen en un cromosoma (plural loci).

Metástasis. Propagación de un foco canceroso en un órgano distinto de aquel en que se inició.

Micronema. Cuerpos elongados que se extienden posteriormente al complejo apical y al parecer ayudan en la penetración a la célula hospedera, con el material secretado durante este proceso.

N-Glicosilación. Proceso de adición serial de carbohidratos a una proteína en la cual, el carbohidrato (*N*-acetilglucosamina) se une al grupo amino de la cadena lateral del aminoácido asparagina o glutamina de la proteína.

Nucleótido. Compuesto orgánico formado por una base nitrogenada, un azúcar y ácido fosfórico. Es posible dividir a los nucleótidos en ribonucleótidos (cuando el azúcar es la ribosa) y desoxirribonucleótidos (si el azúcar es la desoxirribosa).

Polimorfismo. Variación en la secuencia de un lugar determinado del DNA entre los individuos de una población. Aquellos polimorfismos que afectan a la secuencia codificante o reguladora y que producen cambios importantes en la estructura de la proteína o en el mecanismo de regulación de la expresión, pueden traducirse en diferentes fenotipos.

Promotor. Sitio en el DNA al cual puede unirse la RNA polimerasa y comenzar la transcripción.

Quimiocinas. El término de quimiocina hace referencia a un tipo de citocinas de bajo peso molecular (811 kDa) con función quimiotáctica para leucocitos y posiblemente para otros tipos celulares. Tienen un papel crítico como iniciadoras y promotoras de las reacciones inflamatorias.

RNA mensajero. Ácido ribonucleico que contiene la información genética procedente del DNA para la síntesis de proteínas, es decir, determina el orden en que se unirán los aminoácidos.

Transcrito. Molécula de RNA no procesado que es el producto directo de la transcripción.

12. Referencias

1. Aburto Almonacid, A. (2014). Recomendaciones para la detección e identificación de anticuerpos irregulares eritrocitarios. Chile: Instituto de Salud Pública de Chile. Recuperado de <http://www.ispch.cl/sites/default/files/Recomendaciones%20para%20la%20realizaci%C3%B3n%20de%20las%20Pruebas%20Cruzadas%20en%20Medicina%20Transfusional.pdf>
2. Alcaraz-López, J. L. (2005). Inmunoematología: estudios pretransfusionales en pacientes con anticuerpos irregulares. *Revista médica del IMSS*, 43(1), 21-24.
3. Alfonso Dávila, A., et al. (2008). Enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad Duffy: reporte de un caso. *Revista cubana de pediatría*, 80(2). Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003475312008000200014&lng=es&tlng=es.
4. Alfonso Valdés, Y. & Bencomo Hernández, A. (2001). Procedimiento para la detección de anticuerpos eritrocitarios. *Revista Cubana de Hematología e inmunología y Hemoterapia*, 17(2), 98-107.
5. Arbeláez, C. A. (2009). Fundamentos de genética e inmunología para banco de sangre y medicina transfusional. *Medicina & laboratorio*, 15(1-2), 37-68.
6. Arreygue, M. (2011). *Determinación de los alelos principales de los grupos sanguíneos Duffy y Diego*. (tesis de Maestría). IPN Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México, D. F.
7. Barnwell, J. W., Nichols, M. E & Rubinstein, P. (1989). *In vitro* evaluation of the role of the Duffy blood group in erythrocyte invasion by *plasmodium vivax*. *Journal of Experimental Medicine*, 169(5), 1795-17802.
8. Bonifacio, S. L. & Novaretti, M. C. Z. (2009). Biological functions of blood group antigens. *Revista Brasileña de Hematología y Hemoterapia*, 31(2), 104-111.
9. Cartron, J.P. & Colin, Y. (2001). Structural and functional diversity of blood group antigens. *Transfusion Clinique et Biologique*, 8(3), 163-199.

10. Carvalho, G. B & Carvalho, G. B. (2011). Duffy blood group system and the malaria adaptation process in humans. *Revista Brasileira de Hematología y Hemoterapia*, 1(33), 55-64.
11. Castillo, L. (2013). Duffy Blood groups. *Brenner's encyclopedia of genetics*, 1(2), 425-427.
12. Chaudhuri, A. & Pogo, A. O. (1995). Duffy and receptors for *P. vivax* chemotactic peptides. *Transfusion Clinique et Biologique*, 2(4), 269-276.
13. Chaudhuri, A. & Pogo, A.O. (2000). The Duffy protein: A malarial and chemokine receptor. *Seminars in Hematology*, 37(2), 122–129.
14. Chaudhuri, A., et al. (1993). Cloning of glycoprotein D cDNA, which encodes the major subunit of the Duffy blood group system and the receptor for the *Plasmodium vivax* malaria parasite. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 90(22), 10793-10797.
15. Cruz López, A. (2009). *Fisiopatología y diagnóstico de la enfermedad hemolítica del recién nacido*. (tesis de especialidad). Instituto Politécnico Nacional, México, D. F.
16. Colledge, K. I., Pezzulich, M. & Marsh, W. L. (1973). Anti-Fy5, an antibody disclosing a probable association between the Rhesus and Duffy blood group genes. *Vox Sanguinis*, 24(3), 193-199.
17. Cordero, C. E. (2007). *Frecuencia fenotípica de los sistemas eritrocitarios, Kell, Diego, Duffy y Kidd*. (tesis de licenciatura). UNAM Facultad de Química, México, D. F.
18. Culleton, R. L., et al. (2008). Failure to detect *Plasmodium vivax* in west and Central Africa by PCR species typing. *Malaria Journal*, 7(1), 174.
19. Cutbush, M. A & Mollinson, P.L. (1950). The Duffy blood group system. *Heredity*, 4(3), 383-389.
20. Daniel, G., et al. (2009). International Society of Blood Transfusion Committee on terminology for red blood cell surface antigens: Macao report. *Vox Sanguinis*, 96(2), 153-156.

21. Díaz, C. I. (2011). *Frecuencia de anticuerpos irregulares fuera del sistema ABO en pacientes del Hospital Ángeles Mocel*. (tesis de licenciatura). UNAM, México.
22. Esquivel, M. E. & Contreras, P. (1997). Incompatibilidad sanguínea por anticuerpos anti-Duffy (Fya). *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 32(1-2), 31-32.
23. Flisser Steinbruch, A. & Pérez Tamayo, R. (2006). *Aprendizaje de la parasitología basado en problemas*. México: Editores de Textos Mexicanos.
24. González, A. J. (2005). Grupos sanguíneos y enfermedad. *Medicina Clínica*, 125(10), 382-388.
25. González, R., et al. (1998). Fenotipos débiles del antígeno A (sistema ABO de grupos sanguíneos) en donantes de sangre. *Revista Cubana de Hematología e Inmunología y Hemoterapia*, 14(2), 97-100.
26. Herrera, J., Pérez, H., & Serrano, M. L. (2010). Estructura de la Proteína de unión a DUFFY del *Plasmodium vivax* determinada por modelado por homología y refinada por dinámica molecular. Venezuela: Research Gate. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/281641062_Estructura_de_la_Proteina_de_union_a_DUFFY_del_Plasmodium_vivax_determinada_por_Modelado_por_Homologia_y_refinada_por_Dinamica_Molecular
27. Howes, R. E., et al. (2011). The global distribution of the Duffy blood group. *Nature communications*, 2(266), 1-10.
28. Jens, E., Novaretti, M. & Pagliarini, T. (2005). Sistema de grupo sanguíneo Duffy: Biología e práctica transfusional. *Revista Brasileña de Hematología y Hemoterapia*, 27(2), 110-119.
29. Karthigayan, G., et al. (2016). Role of *Plasmodium vivax* Duffy-binding protein 1 in invasion of Duffy-null Africans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(22), 6271–6276.
30. Knowles, S. & Regan, F. (2013). Antígenos y anticuerpos de las células sanguíneas: eritrocitos, plaquetas y granulocitos. *Hematología práctica*, 413-447.

31. Langhi, D. M. & Bordin, J. O. (2005). Duffy blood group and malaria, *Hematology*, 11 (5-6), 389-398.
32. Lee, J. S., et al. (2003). Duffy antigen facilitates movement of chemokine across the endothelium *in vitro* and promotes neutrophil transmigration *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Immunology*, 170(10), 5244-5251.
33. Lomas, C. & Reid, M. (2012). *The blood group antigen factsbook*. Tercera edición: 361-372
34. Machado, P., et al. (2010). La contribución de los polimorfismos humanos del eritrocito en la protección contra la malaria. *Revista Pan-Amazonica de Saúde*, 1(4), 85-96.
35. Madigan, M., Martinko, J. & Parker, J. (2003). *Brock biología de los microorganismos*. 10° edición. España: Prentice Hall
36. Marín, R. & León, R. (2000). Fenotipos, genotipos y genes del sistema Duffy. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 57, 23-26.
37. Mattos, L. C. (2005). Duffy: a considerably complex blood group system. *Revista Brasileña de Hematología y Hemoterapia*, 27(2), 79-82.
38. Mercereau-Puijalon, O. & Ménard, D. (2010). *Plasmodium vivax* and the Duffy: A paradigm revisited. *Transfusion Clinique et Biologique*, 17(3), 176-183.
39. Middleton, J., et al. (1997). Transcytosis and surface presentation of IL-8 by venular endothelial cells. *Cell*, 91(31), 385-395.
40. Muhamad, F. (2011). *Polymorphisms identification of Duffy Blood Group Chemokine Receptor (DARC) gen from malaria subjects in Mimika district, Papua*. (tesis de grado). Universidad de Indonesia, Indonesia.
41. Nichols, M. E., Rubistein, P. & Bamwell, J. (1987). A new human Duffy blood group specificity defined by a murine monoclonal antibody. Immunogenetics and association with susceptibility to *Plasmodium vivax*. *Journal of Experimental of Medicine*, 166(3), 776-785.
42. Oliveira, A. P., Mattos, L. C. & Cavasini, C. E. (2011). Chagas disease and Duffy antigen/receptor for chemokine (DARC): a mini-review. *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 17(3), 264-270.

43. Peralta, z., et al. (2009). *Importancia de anticuerpos irregulares en medicina transfusional* (seminario de graduación). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Nicaragua.
44. Quintanar, G. (1997). Uso de panel de eritrocitos de fenotipo conocido, experiencia nacional. *Memorias de las jornadas del banco central de sangre del Centro Médico Nacional Siglo XXI*, 61-90.
45. Rosales, B. (2008). *Rastreo piloto de anticuerpos irregulares de pacientes que reciben transfusiones en el banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios* (Informe final). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
46. Ruiz de Adana, R. & Elipe, P. (2015). Criterios para realizar una transfusión. *Terapéutica en APS*, 22(4), 208-213.
47. Smolarek, A., et al. (2010). Multiple in structural models of DARC transmembrane protein. *Transfusion Clinique et Biologique*, 17(3), 184-186.
48. Souled, F. & Morin F. (2011). Reglas de compatibilidad y accidentes inmunológicos de la transfusión sanguínea. *Anestesia y reanimación*, 37(1), 1-14.
49. Spencer, L. M., Gómez, A. & Collovini, E. (2016). Mecanismos de invasión del esporozoíto y merozoíto de *Plasmodium*. *Revista Bionatura*, 1(2), 89-94.
50. Strieter, R., et al. (2004). Chemokines in angiogenesis of cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 14(3), 195-200.
51. Tournamille, C. (2000). Bases moléculaires et relations structure-fonction des antigenes de groupe sanguine Duffy: récepteur de chimiokines et de plasmodium Vivax. *Transfusion Clinique et Biologique*, 7(5), 497-509.
52. Vázquez, J. A., Vassallo, E. & Storino, M. A. (2002). Reacciones postransfusionales. *Revista de la Facultad de Medicina*, 25(2), 154-162.
53. Vives Corrons, J. L. (2006). Anemias hemolíticas adquiridas. En: Sans Sabrafen, J., Besseg Raebel, C. & Vives Corrons, J.L. *Hematología en la clinica* (273-298), Madrid, España: Elsevier.
54. Westhoff C. & Reid M. (2007). Rh, Kell, Duffy and Kidd antigens and antibodies. En: Hilyer, C., et al. (Segunda edición), *Blood banking and transfusion medicine* (80-95), Philadelphia, E.U.A: Churchill Livingstone Elsevier.