



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

ERITROBLASTOSIS FETAL POR SISTEMA ABO.
LA IMPORTANCIA DEL DIAGNOSTICO TEMPRANO.

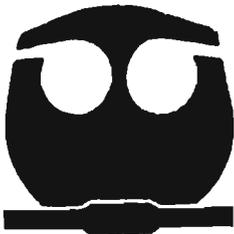
TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION.

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

MA. ESTRELLA IVETT MARMOL YAHYA



MEXICO, D. F.



**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA**

2005

17349248



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO.

PROFESORES.

Presidente **MARIA DOLORES LASTRA AZPILICUETA** _____

Vocal **EVA DELIA CALDERON GARCIDUEÑAS** _____

Secretario **PERLA DEYANIRA MALDONADO JIMENEZ** _____

1er sup. **SONIA MAYRA PEREZ TAPIA** _____

2do sup. **ARACELI MENDIETA RERGIS** _____

**Trabajo Monográfico de Actualización realizado en la Biblioteca de la
Facultad de Química en Ciudad Universitaria, México, D.F.**

Asesor del Tema **Esp. en BQC EVA CALDERON GARCIDUEÑAS** _____

Sustentante **MA. ESTRELLA IVETT MARMOL YAHYA.** _____

DEDICATORIAS.

A Marcos.....

El esfuerzo de este trabajo es por y para mis hijos Juan David y Rodrigo, así como para Stephy, esperando que algún día les sirva de ejemplo de que el querer es poder. Los amo.

AGRADECIMIENTOS.

Ante todo gracias a Dios por siempre guiar mis pasos y darme la luz necesaria para saber salir adelante y conseguir lo que tanto he deseado.

A mis papas “Estre” y “Chava” quienes me han dado el mejor ejemplo de responsabilidad, honestidad, lealtad, valor y tenacidad, que a lo largo de mi vida me han dado la oportunidad de ir aplicándolo junto con ellos, así como por apoyarme siempre con su esfuerzo, confianza y amor incondicional. Mami: te amo, eres la mujer que más admiro en el mundo, eres la número 1 en todo, eres increíble, gracias por todo lo que siempre me has dado y más. Papi: te amo, tú significas todo lo que yo quiero ser en la vida, eres simplemente mi modelo a seguir en todo, todo, todo, te adoro. Los dos son todo para mí y por eso quiero agradecerles con este logro, que es gracias a ustedes, lo que han hecho por mí.

A mi hermano, quien siempre ha estado a mi lado compartiendo momentos gratos y amargos, en quien siempre encuentro apoyo y cariño, y quien hizo posible en gran parte el que yo pudiera llegar hasta este momento, porque ha sabido ponerme el ejemplo de lo que es ser un gran luchador en la vida, un defensor de sus ideales y convicciones, un gran ser humano, brillante estudiante, ejemplar profesionista y un fantástico hermano. Salvador: eres mi gran orgullo, es un privilegio ser tu hermana, te adoro. Mil gracias.

A mi prima-comadre Michelle por tener siempre confianza en mí, demostrándomelo en todo momento con su apoyo y cariño. Te quiero Mich.

A mis hijos Juan David y Rodrigo y a mi esposo David, por regalarme el tiempo tan valioso que pude haber compartido con ellos, y que sin chistar me lo otorgaron para poder invertirlo en alcanzar esta meta. Gracias por todo, los amo.

A todos y cada uno de los integrantes de mi familia, que no se si sea la mejor del mundo, pero que si se aproxima mucho a eso. Va toda mi gratitud y cariño por siempre tenerme presente en sus oraciones y estar pendiente de mis avances; esto ha sido el

gran pilar que me ha sostenido en tantas y tantas experiencias que hemos podido compartir: A Saris, que más que mi mejor amiga es mi hermana, siempre con nosotros, por eso y por estar desde hace tantos años cerca de mí, es una pieza importante en esta familia, compartiendo todo; así que yo sé que este logro es tan mío como suyo y que está tan feliz como yo por haberlo concretado. Gracias Nena, te quiero. A mi “comis” Elly por su presencia e interés en todo lo que hago. A mis padrinos Lú y Florencio. A mis tíos Irma y Bernardo, Neguib (+) y Munira, y muy en especial a mi tía Margarita, de quien heredaré (además de otras cosas) el amor, dedicación y respeto por mi profesión.

A mis primos Brenda, Alejandra y Benny, a Marcos, a Amira y Naief, a mis primos-compadres Norma y Edgar, y a Mahmud, de quienes he aprendido y descubierto muchas cosas “padres” que tenemos en común y que nos hace siempre estar unidos. Todos ustedes son muy importantes para mí.

A mi Madrina Andrea quiero darle un agradecimiento muy especial, ya que en ella tengo la imagen real de lo que tiene que ser un QFB y una gran mujer; porque siempre ha estado junto a mí para impulsarme y orientarme, además de saber predicar con el ejemplo, demostrando su calidad como ser humano y profesionista. Madrina, te admiro mucho.

Al Dr. Arturo Galindo Pérez tengo un sin fin de cosas que agradecerle, entre ellas el interés que desde que me conoce ha puesto para que yo logre concluir esta carrera, brindándome su apoyo incondicional; compartiendo conmigo su gran experiencia y conocimientos, demostrándome en todo momento confianza; por darme la oportunidad de realizarme en lo que es la vida profesional, así como de enseñarme el respeto y profesionalismo con el que hay que desenvolverse día con día en esta labor.

A mis amigos en el Hospital Rosa del Tepeyac: los Doctores Efraín Peralta, Adrián Escobar, Laobardo Valle, Rosa Ma. Guarneros y Ernesto Ruíz Rueda, y la QFB Rosa Guadalupe Meza de quienes he aprendido tantas cosas y valores. A las enfermeras Gina y Rocío que siempre han estado presentes con su apoyo en todos aspectos. A mis amigas y confidentes Vero y la Dra. Lidia Morales, quienes tantas veces han sido mi paño de lágrimas y han sabido tener la palabra adecuada para darme siempre ánimos. Y

por último a Clarita que me ha distinguido con su amistad y por ser la mejor asistente del mundo.

No quiero dejar de recordar y agradecer a mis amigos de la Facultad, con quienes llegamos a formar una familia fuera de casa: Guille, Cinthya, Chayo, Vero, Luisa, Maru, Maribel, Ana Pedrero, Claudia Villamar, Arturo, Saúl, Raúl, Renan, Olivia Portillo, Araceli, gracias por compartir conmigo una de las facetas más bonitas de nuestras vidas

Por su puesto que tengo que darle las gracias a la Esp. en BQC Eva Delia Calderón por aceptar dirigir este trabajo y por haber sido una de las profesoras que más huella dejó en mí durante la carrera por su forma de ser como profesionista y por todo lo que ha logrado. Y también gracias a esta Gran Casa de Estudios que es la Universidad Nacional Autónoma de México, ya que gracias a ella ahora soy lo que soy.

En un apartado especial quiero mencionar a quienes ya no están conmigo, pero que en su momento me dieron lo mejor de ellos para que yo pudiera llegar hasta aquí, me refiero a mis abuelitos Chayito y Queco, seguro en donde estén se sienten satisfechos de ver lo que he conseguido. Y a Bertha que siempre me demostró lo importante que era en su vida, dejando conmigo a lo más preciado que tuvo, Saris. Siempre los llevo en mi corazón. Los quiero mucho.

INDICE.

| | |
|--|-----------|
| INTRODUCCION..... | 2 |
| CAPITULO I. GENERALIDADES..... | 5 |
| Origen y desarrollo de las células hemáticas..... | 5 |
| Eritrocitos. Consideraciones generales. | 9 |
| Hemoglobina. Estructura y función. | 26 |
| Ictericia Neonatal. | 31 |
| Grupos Sanguíneos. | 35 |
| | |
| CAPITULO II. ERITROBLASTOSIS FETAL. | 42 |
| Enfermedad Hemolítica Perinatal. | 42 |
| Kernicterus. | 46 |
| Análisis Prenatal. | 52 |
| Determinaciones Inmunohematológicas. | 56 |
| Pruebas especiales para la identificación de anticuerpos. | 62 |
| Datos de Laboratorio. | 65 |
| | |
| CAPITULO III. PROPUESTA. | 74 |
| Diagnóstico Prenatal. | 75 |
| Diagnóstico Posnatal..... | 80 |
| | |
| CAPITULO IV. CONCLUSIONES. | 94 |
| | |
| BIBLIOGRAFIA. | 97 |

ERITROBLASTOSIS FETAL POR SISTEMA ABO.

LA IMPORTANCIA DEL DIAGNOSTICO TEMPRANO.

INTRODUCCIÓN

La eritroblastosis es una enfermedad del feto y del recién nacido caracterizada por una anemia hemolítica debida a la incompatibilidad entre el grupo sanguíneo materno-fetal, conocida también como Enfermedad Hemolítica Perinatal (EHPN)^(Clarke,1988). Esta enfermedad recibe tal nombre debido a la frecuente aparición de elementos rojos nucleados en sangre periférica, que proceden de la activa proliferación existente en el hígado, bazo y médula ósea como compensación de la hemólisis ^(Levine,1984).

En la EHPN se origina una isoimmunización como resultado de la presencia de una sustancia antigénica en los glóbulos rojos del feto que no está presente en los de la madre. La entrada de este factor antigénico en la circulación trae como consecuencia una respuesta inmune en la madre y el paso de anticuerpos (del tipo IgG) a través de la placenta. Estos anticuerpos se unen a la membrana del glóbulo rojo fetal facilitando su hemólisis (excepto en la EHPN por ABO, donde los anticuerpos están preformados) ^(Bowman,1998). El paso transplacentario de glóbulos rojos o sustancias antigénicas es facilitada por la existencia de una sola capa de células sinticiales que separa las vellosidades que contienen vasos repletos de sangre fetal y sinusoides con sangre materna. También favorecen este paso el adelgazamiento que experimentan las paredes placentarias a medida que aumenta su extensión y las pequeñas rupturas de la barrera placentaria que permiten el paso de sangre fetal. Ha sido muy estudiado el paso de glóbulos rojos fetales a la circulación materna a través de la placenta, conociéndose también con detalle el proceso inverso. Esta unión de los anticuerpos con los glóbulos rojos fetales que ocurre en el útero y durante el período neonatal conduce a las distintas manifestaciones patológicas, clínicas y hematológicas que caracterizan el síndrome ^(Bevis,1996).

La sensibilización que ocurre durante los embarazos generalmente es debida a glóbulos rojos fetales Rh positivos que penetran en la circulación de la madre Rh negativo. Un mecanismo similar acontece con respecto a los embarazos heterospecíficos ABO (Levin,1984; Bowman,1988).

En el caso de una EHPN provocada por la producción de anticuerpos contra el antígeno D del sistema Rh, si una madre ha sido sensibilizada por medio de una transfusión previa, es posible que en su primer embarazo de a luz a un niño con eritroblastosis, en tanto el recién nacido de una madre inmunizada durante el embarazo no presenta generalmente la enfermedad. En este último caso no pueden detectarse los anticuerpos anti-Rh en la circulación materna hasta el embarazo siguiente en el cual el feto sea Rh negativo. Esto significa que del primer embarazo resultará un niño sano, pero que los recién nacidos subsecuentes estarán afectados puesto que los embarazos posteriores proporcionan un estímulo al mecanismo formado de anticuerpos que se inició en el curso del primer embarazo (Clóvis,1992).

Los anticuerpos que con mayor frecuencia producen EHPN son los del sistema ABO y Rh (Bowman,1998; Clóvis,1992; Foerster,1998; Klemperer,1986), siendo la primera más frecuente, pero su relación con muerte fetal o neonatal es menor que la de la EHPN-Rh. En la literatura se señala que aproximadamente las dos terceras partes de los casos de EHPN se deben a incompatibilidad ABO (Linares,1996). Su incidencia y severidad no muestran un comportamiento universal, pues en países anglosajones es una entidad clínica muy benigna; sin embargo, en países de Sudamérica, el Caribe, Medio Oriente, Asia y Africa, la incompatibilidad ABO es causa de EHPN severa (Contreras,1994; Lubenko,1994). Se han detectado gran cantidad de antígenos fuera de los sistemas ABO y Rh, mismos que han sido organizados en Sistemas (Kell, Duffy, Kidd, etc) (Bowman,1998; Foerster,1998) y de los que no todos son capaces de producir hemólisis, ya que dependerá, además de la ausencia del antígeno en la madre y la presencia del mismo en el feto, de la inmunogenicidad del antígeno específico, por lo que resulta igualmente importante su estudio (Clóvis,1992; Contreras,1994) sin embargo, en esta revisión sólo se enfatizará la incompatibilidad por ABO (descrita por

Halbrecht en 1944) y la gran cantidad de diferencias entre este padecimiento y la EHPN por Rh.

Es de suma importancia la atención que debe mantenerse en el seguimiento, en cuanto al manejo de la madre sensibilizada y el recién nacido ya que el diagnóstico de esta enfermedad puede efectuarse precozmente, incluso antes del nacimiento. Diagnóstico que es importante para decidir y aplicar la profilaxis y el tratamiento adecuado según sea el caso, además de actuar con rapidez y precisar los anticuerpos involucrados, para disminuir la incidencia y la morbilidad.

El interés de esta revisión es poder correlacionar todos los factores involucrados en este padecimiento, creando una estrecha comunicación y colaboración entre el profesional de la salud (Ginecólogo, Pediatra, Neonatólogo, Perinatólogo, Genetista, Hematólogo, Inmunólogo, Químico, etc) y los pacientes afectados, procurando hacer posible un compromiso más sólido por parte de las instituciones de salud en cuanto a los principios básicos que deben considerarse para el análisis y la prevención de esta enfermedad. El banco de sangre tiene una participación importante en el seguimiento de esta enfermedad, ya que el paciente requiere de varios métodos de identificación y diagnóstico, en los laboratorios de Bancos de Sangre se manejan con experiencia, para que de esta manera sea posible diseñar un protocolo serio de investigación que sea fácilmente difundible.

Para familiarizarnos con esta enfermedad, es necesario revisar algunos temas básicos para conocer los orígenes y consecuencias de la eritroblastosis, comenzando con el origen de las células hemáticas y su interacción con el organismo.

CAPITULO I. GENERALIDADES.

ORIGEN Y DESARROLLO DE LAS CELULAS HEMATICAS.

Es importante realizar una revisión de los rasgos esenciales del desarrollo prenatal de la sangre, ya que esto nos proporciona la base para comprender las anomalías posnatales de los elementos circulantes de la sangre, su procedencia y lugares de formación. El término *hematopoyesis prenatal* establece una continuidad a los hechos que ocurren en el embrión durante los tres primeros meses y en el feto durante el resto de la gestación. La importancia que se ha dado a las relaciones feto-maternas y que ha aportado mucha luz para la comprensión de otros sistemas, puede esclarecer la etiología, desde su misma base, de varias de las discrasias hemáticas. Por lo tanto es indispensable la comprensión de los cambios sanguíneos en los primeros meses de la vida para conocer la formación hemática embrionaria y fetal^(Abrahamov,1996; Allen,1993).

LUGARES DE HEMATOPOYESIS.

Los elementos formes de la sangre del embrión provienen del mesénquima. Las primeras células producidas en el saco vitelino se convierten en los corpúsculos rojos primitivos. A partir de la difusión del mesénquima por todo el embrión, la hematopoyesis se inicia en múltiples lugares y se localiza finalmente en órganos especializados. Los centros hematopoyéticos definitivos en lo que concierne sobre todo a los hematíes aparecen de modo sucesivo, aunque con cierta superposición, en el saco vitelino, a partir del cuarto mes de la gestación. La médula ósea hace su aparición en la sexta semana del desarrollo, sin embargo no se transforma en foco hematopoyético activo hasta el cuarto mes y no adquiere esta función en exclusividad hasta la segunda o tercera semana después del nacimiento^(Bevis,1996). El hígado es, hasta la mitad de la vida fetal, el órgano formador de sangre que muestra una mayor actividad. Se ha confirmado que, en contraposición a la

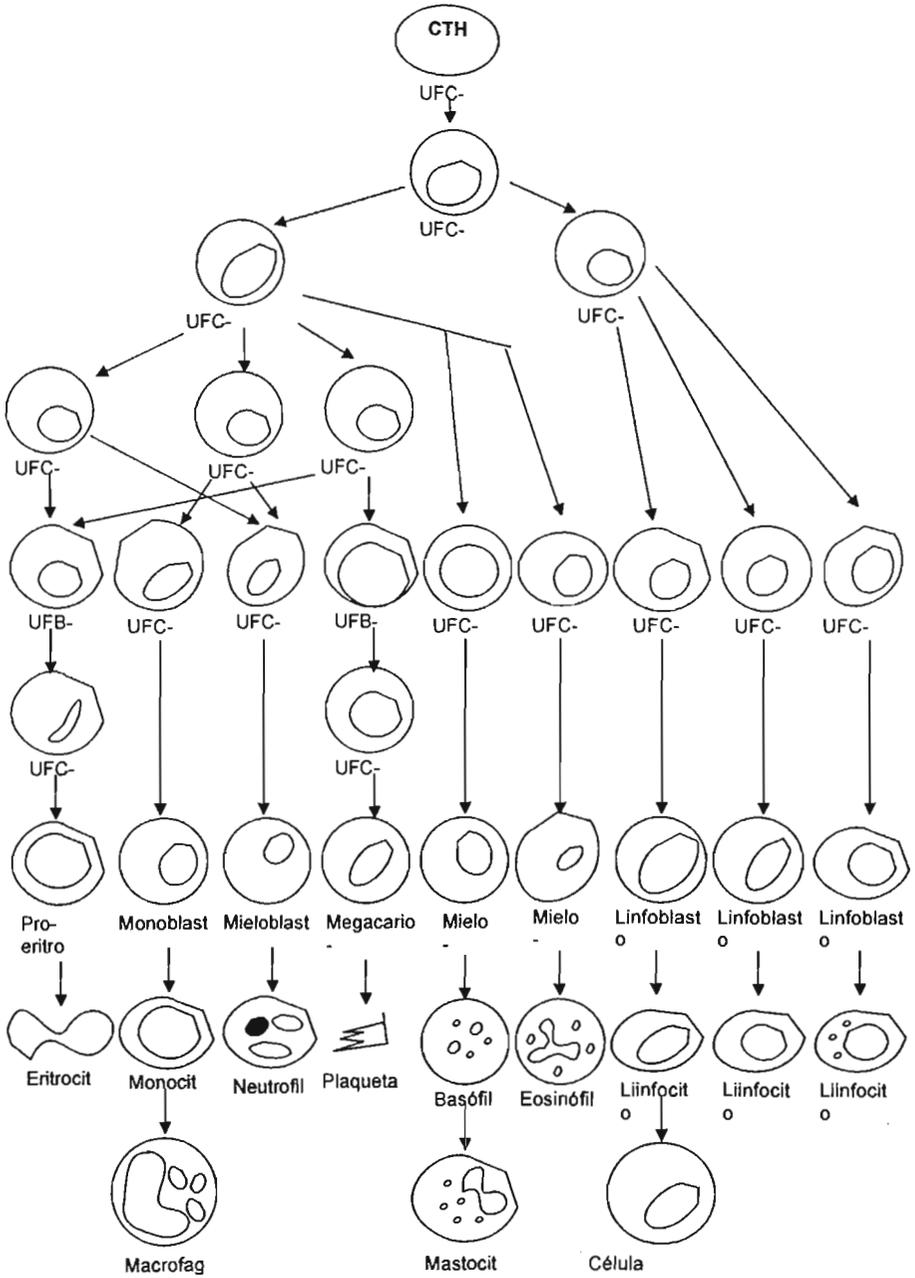
medula, el hígado representa el origen principal de los eritrocitos fetales; en este período de hematopoyesis hepática se sintetiza únicamente hemoglobina fetal. Al disminuir la hematopoyesis en este órgano, la médula ósea pasa a asumir dicha función, ejerciéndola ya para el resto de la vida fetal. Adquieren al mismo tiempo actividad hematopoyética el bazo, los ganglios linfáticos y, en menor escala el timo. La médula ósea y el bazo constituyen un medio ideal para la formación de la hemoglobina y los hematíes; en todos existen capilares arteriales no anastomóticos que desembocan en un rico plexo de sinusoides venosos. La lenta circulación y la estasis sanguínea determinan una tensión relativamente alta de CO₂, factor primordial para la elaboración de hemoglobina y la formación de la célula primitiva^(Eastman, 1993).

APARICIÓN DE LOS ELEMENTOS FORMES DE LA SANGRE.

El mesénquima es considerado como el principal tejido hematopoyético del embrión, lo que correspondería al tejido conjuntivo fijo del organismo adulto. El hemocitoblasto, derivado del mesénquima, es la célula primitiva pluripotencial cuya principal misión reside en la hematopoyesis. Esta célula primitiva de carácter frecuentemente ameboideo en el embrión, representa el precursor de los hematíes, granulocitos, linfocitos y megacariocitos^(Bevis, 1996). (figura de ontogenia del eritrocito en la pag 9)

Existen variaciones de los elementos formes de la sangre en relación con el tamaño placentario. Al mes de edad la placenta es seis veces más pesada que el feto y al momento de nacer su peso es un séptimo del fetal^(Abrahamov, 1996; Allen, 1993).

ONTOGENIA DEL HEMATIES.



**HEMATIES.*

En todos los focos hematopoyéticos se desarrolla una rápida multiplicación por mitosis, una maduración progresiva caracterizada por la síntesis de hemoglobina, condensación y subsiguiente pérdida del núcleo y finalmente se produce la entrada de las células resultantes en la circulación. En las 6 primeras semanas de la gestación prácticamente todas las células rojas son nucleadas. Durante la novena semana ocurre un rápido cambio hacia la forma no nucleada, que es casi total, al final de la décima semana.

Los grandes eritoblastos primitivos representan la primera generación de células rojas que aparecen en el embrión; son remplazados por numerosos eritoblastos más pequeños firmados en el período hepático. Al final del cuarto mes las células primitivas han desaparecido totalmente^(Bevis,1996; Downey,1988; Playfair,1993).

TEORIAS SOBRE LA FORMACIÓN DE LA SANGRE.

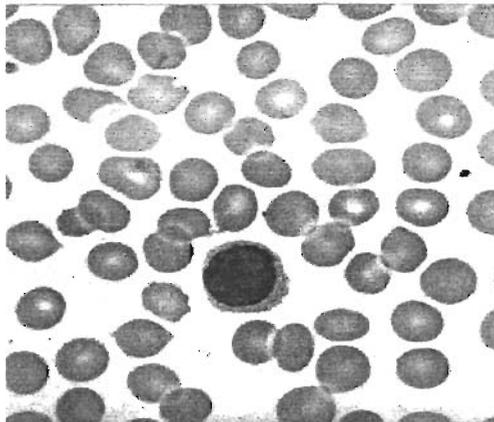
Existen dos teorías sobre la génesis de las células hemáticas. La teoría monofilética considera al hemocitoblasto como la célula pluripotencial de la cual se originan todas las células hemáticas. La teoría polifilética considera que cada una de las células sanguíneas posee precursores completamente diferenciados. Por ejemplo los mieloblastos son precursores de los mielocitos. Los reticulocitos y hematíes maduros derivan de los proeritoblastos y de los eritoblastos maduros. El término eritoblasto comprende los elementos de la serie roja normal. Los megaloblastos aparecen en enfermos con anemia perniciosa. Los megacarioblastos y los promegacariocitos son las formas primitivas del megacariocito maduro^(Windle,1990; Wintrob,1956).

HEMATÍES. CONSIDERACIONES GENERALES.

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN.

Los hematíes normales humanos son discos bicóncavos, cuya función primordial es el transporte de hemoglobina, la cual representa un 34% de su peso. Estructuralmente están adaptados para su desplazamiento rápido a través del sistema circulatorio, a fin de conducir con rapidez el oxígeno desde los pulmones a los tejidos, a través de los capilares más pequeños^(Downey,1988; Windle,1990). El hematíe es más grueso en los bordes que en su porción central y posee una elasticidad que le permite soportar los embates mecánicos al pasar a través de capilares de diámetro más pequeño que el suyo propio. En su conjunto, los hematíes constituyen en el adulto una superficie total aproximada de 3,000 m²; ello facilita la captación y aportación de oxígeno y contribuye quizá al transporte de otras sustancias en su superficie de absorción^(Downey,1988; Eastman,1993). La hemoglobina no se haya disuelta, sino íntimamente adherida a la red del estroma, la cual está formada por un material semejante a una esponja que ocupa el interior de la célula^(Downey,1988; Zipursky,1982). El hematíe contiene, además de hemoglobina, agua, proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas, hierro y sistemas enzimáticos que mantienen la integridad de la membrana celular. En la circulación, la hemoglobina permanece relativamente estable, comparada con otros constituyentes de los hematíes que experimentan constantes cambios físico-químicos relacionados con su metabolismo^(Zipursky,1982).

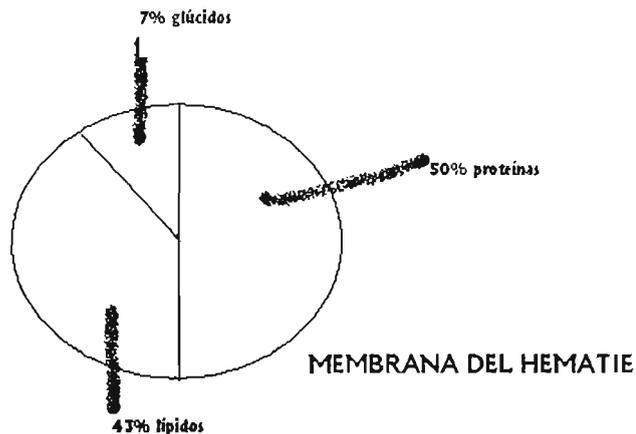
ERITROCITOS. (morfología normal)



MEMBRANA .

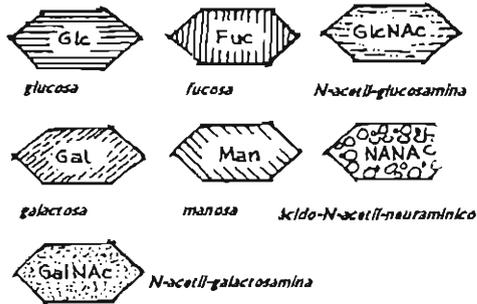
La membrana de los hematíes está formada por proteínas, lípidos y carbohidratos. Determinados antígenos de grupo sanguíneo están asociados con estructuras específicas de la membrana. Muchos antígenos son proteínas como Rhesus (Rh), Duffy (Fy) y Kidd (Jk); otros son carbohidratos como ABO, Lewis (Le) y P y otros son una combinación de glucolípidos y proteínas (M, N)^(Erslev, 1994).

En la superficie de la membrana celular se encuentran las propiedades y características que le confieren al hematíe, especificidad en los procesos de aglutinación y hemólisis^(Erslev, 1994; Granick, 1994; Grant, 1992).

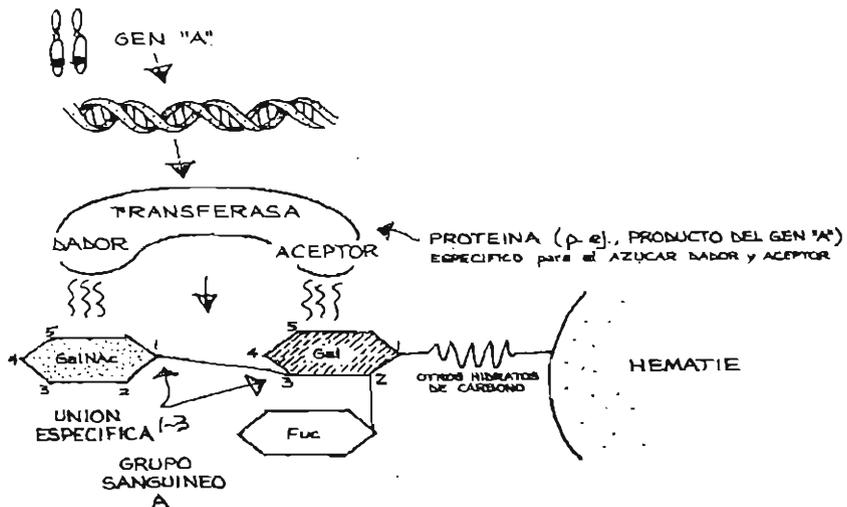


*GLÚCIDOS.

Están formados por carbono, oxígeno e hidrógeno. Los azúcares sencillos, denominados también monosacáridos, que se hallan en la membrana eritrocitaria son aldosas de 6 átomos de carbono (hexósas como se ilustra en la siguiente figura), que forman anillos de 6 átomos de carbono cuando están en solución.



Los monosacáridos están unidos unos a otros por enzimas llamadas glucosiltransferasas. Cada transferasa está bajo control genético separado y cataliza la transferencia de un azúcar a otro azúcar receptor (Granick, 1994; Gross, 1993; Prankerd, 1995).

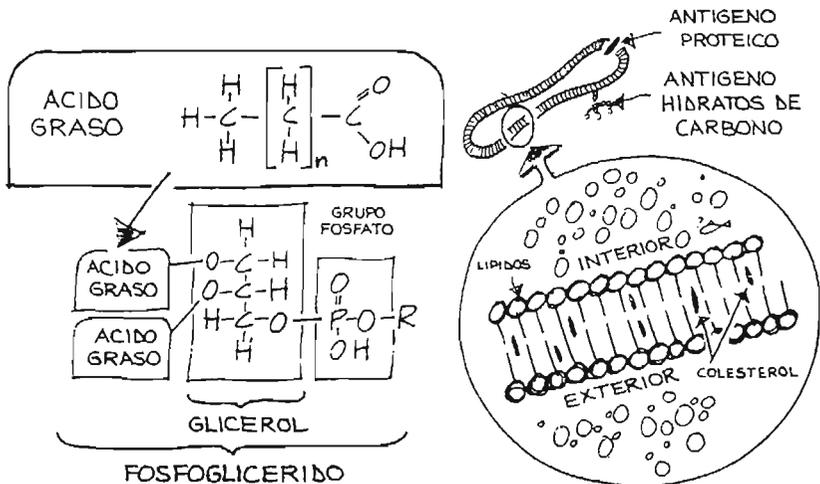


*LÍPIDOS.

Aproximadamente el 43% de la membrana del hematíe está constituida por lípidos. El agua no disuelve ni penetra una barrera lipídica. De este modo, el contenido celular está protegido frente a su medio externo.

Alrededor de la mitad de los lípidos de hematíe están en forma de fosfoglicéridos. Otros lípidos de la membrana son esfingolípidos y colesterol.

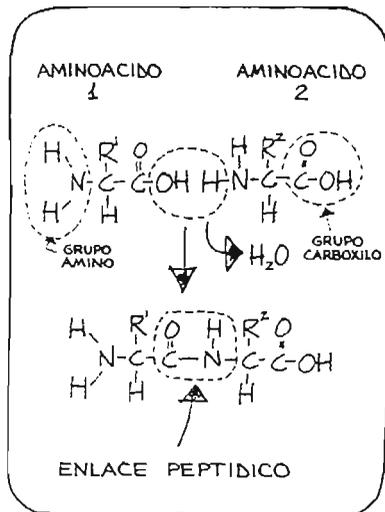
Los lípidos de la membrana están dispuestos de tal forma que las porciones hidrofílicas están en contacto con las soluciones acuosas del interior y del exterior de la célula, mientras que las porciones hidrofóbicas constituyen la parte interna de la membrana en la que está incrustado el colesterol. La doble capa lipídica forma la pared de la membrana y separa el contenido celular del medio externo. El oxígeno puede pasar directamente a través de la doble capa lipídica y fijarse a la hemoglobina contenida dentro del hematíe (Granick, 1994; Gross, 1993; Prankerd, 1995).



*PROTEÍNAS.

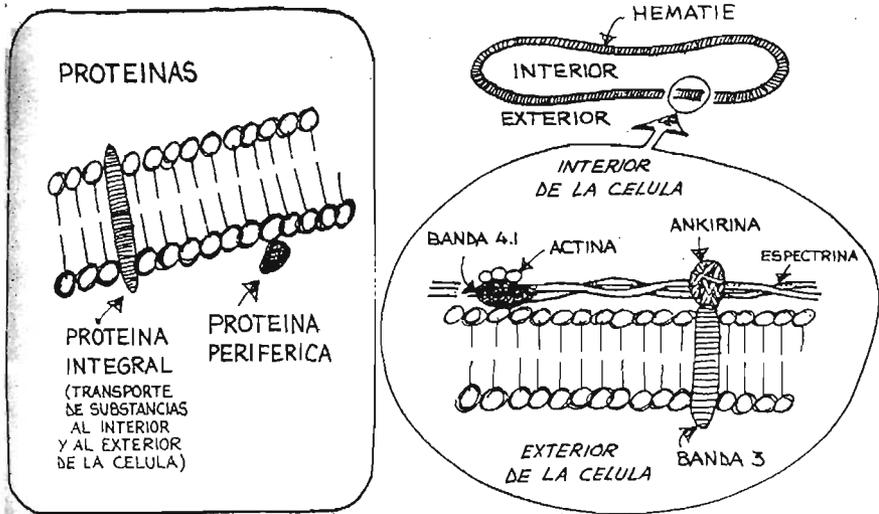
Existen veinte aminoácidos diferentes, estos aminoácidos están unidos entre sí mediante un **enlace peptídico** entre el grupo carboxilo de uno de los aminoácidos y el grupo amino del otro, formando así cadenas peptídicas. Estas secuencias lineales de

aminoácidos se denominan **proteínas** (Granick,1994; Gross,1993; Pranker, 1995)



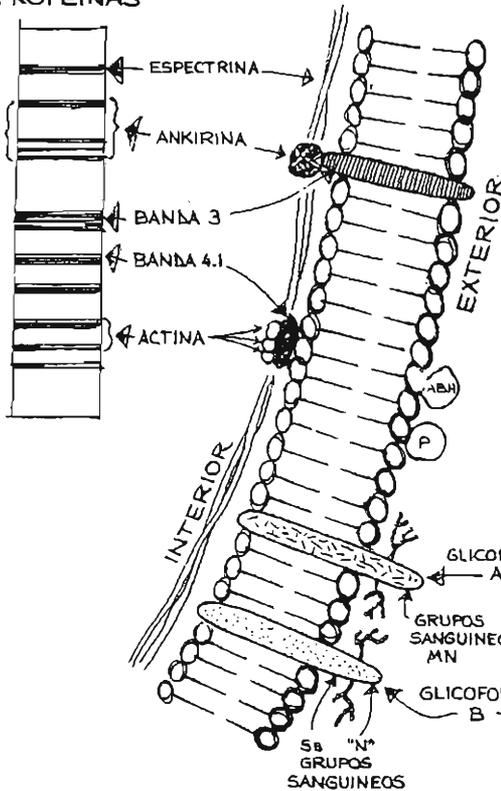
**PROTEÍNAS DE LA MEMBRANA.*

Algunas proteínas están laxamente unidas a la superficie externa de la membrana celular (proteína periférica) y otras están profundamente incrustadas en la doble capa lipídica (proteína integral). Las proteínas integrales son importantes para el transporte de solutos a través de la membrana celular. Las proteínas hidrofóbicas están localizadas en la doble capa lipídica fuera del medio acuoso y las proteínas hidrofílicas están en contacto con el plasma. Las proteínas periféricas pueden ser separadas sin alterar la membrana, mientras que las proteínas integrales solamente pueden separarse si se altera la doble capa lipídica. Las tres proteínas integrales más importantes son la banda 3, la glicoforina A y la glicoforina B.

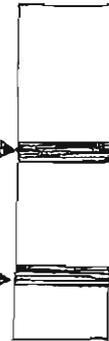


Los antígenos de grupo sanguíneo están asociados con la membrana del hematíe, pudiendo formar parte de su estructura, o bien estar adsorbidos en ella procedentes del plasma. Dichos antígenos están formados por proteínas o carbohidratos. Un individuo posee un antígeno determinado que ha heredado los genes que controlan su producción. Los antígenos protéicos están bajo control genético directo, mientras que los antígenos glucocídicos son ensamblados por transferasas controladas genéticamente^(Granic, 1994; Gross, 1993; Prankerd, 1995)

TINCION
PARA LAS
PROTEINAS



TINCION
PARA LAS
GLUCOPROTEINAS
(TINCION DE PAS)



METABOLISMO.

Los elementos nucleados de la serie roja están capacitados para desarrollar la mayoría de las reacciones características de las células de otros tejidos. Pueden sintetizar ácido desoxirribonucleico (ADN) y ácido ribonucleico (ARN), necesarios para la proliferación celular^(Prankerd, 1995). Casi toda la hemoglobina de los hematíes se sintetiza en la médula ósea durante el período fetal. El reticulocito no posee núcleo y sólo contiene una pequeña cantidad de ADN, pero posee ARN así como mitocondrias. El reticulocito no sólo es capaz de sintetizar la protoporfirina sino también de incorporar hierro dentro del anillo

protoporfirínico para formar hemo. El hematíe maduro contiene poca cantidad de ARN o bien está exento de él. El hematíe circulante al desprenderse de su núcleo no ejerce ya función de tejido respiratorio activo y por tanto, no contiene las enzimas del ciclo de Krebs ni del sistema citocromo. En ausencia del ciclo de Krebs, el hematíe maduro provee su energía principalmente de la glucólisis anaerobia (vía de Embden-Meyerhof) y de la oxidación de la glucosa por la vía de las pentosas-monofosfato. La glucosa, el substrato más importante, es constantemente demandada ya que la reserva de glucógeno es prácticamente inexistente. El de la pentosa-monofosfato, es la vía metabólica activa relacionada sobre todo con la formación de trifosfopiridinnucleótido (TPNH) el cual interfiere con la degradación oxidativa de la hemoglobina y quizá de otras proteínas. Las enzimas involucradas en la producción de TPNH son más activas en los hematíes del recién nacido que en los del adulto^(Zipursky,1982; Prankerd,1995; Shojania,1994).

Los hematíes poseen en su interior un mecanismo mediante el cual la energía libre disponible para los procesos oxidativos puede ser utilizada por todos aquellos procesos que la requieran^(Eastman,1993). Esto se lleva a cabo por el almacenamiento de energía libre gracias a la formación de un tipo especial de compuestos de fosfato de alto contenido energético. Este compuesto de fosfato rico en energía es el adenosintrifosfato (ATP). Esta fuente de energía metabólica es indispensable para la conservación de la constitución normal del hematíe, esto es, para mantener la capacidad de estabilizar su volumen y mantener su forma. La disminución de la glucólisis y de la producción de ATP se ha relacionado con el envejecimiento del hematíe y con su mayor susceptibilidad para ser destruido. En general se considera que la destrucción de los hematíes al término de su vida es debida a un fallo de una o varias de sus actividades metabólicas esenciales, de lo cual resulta que el hematíe es incapaz de producir suficiente energía para mantener su integridad estructural. Si ello ocurre, la célula se destruye y es eliminada de la circulación por el tejido reticuloendotelial^(Eastman,1993; Prankerd,1995; Shojania,1994).

Tanto en los recién nacidos a término como en los prematuros, se encuentran aumentados los valores de ATP y de su precursor el adenosindifosfato (ADP). En el

premature el valor de ADP es mayor que en los fetos nacidos a término. Estas cifras altas de ATP y ADP son mantenidas por un aumento de la actividad de las enzimas correspondientes. Todo esto sugiere que por la producción de energía metabólica los hematíes del recién nacido son más activos que los del adulto^(Pranker, 1995; Shojania, 1994).

El volumen de los hematíes normales es de $85\mu^3$ y contiene de 28 a $30\mu\text{g}$ de hemoglobina. Al nacer los hematíes son macrocíticos, disminuyen de tamaño durante el período neonatal y alcanzan el tamaño normal de 7.2 a 7.5μ de diámetro a los 8 meses de edad^(Downey, 1988; Shojania, 1994).

PRODUCCIÓN ERITROCITARIA.

Múltiples factores, algunos de ellos con funciones especializadas, intervienen en la producción de los hematíes.

****FACTORES NECESARIOS PARA LA ERITROPOYESIS.***

La maduración normal de los precursores de los hematíes requiere la presencia de aminoácidos, proteínas y del complejo vitamínico B, especialmente piridoxina, ácido fólico (ácido pteroilglutámico), riboflavina, vitamina B₁₂, y los constituyentes de los ácidos nucleicos, timina y timidina. De todos estos factores, la vitamina B₁₂, el ácido fólico y, en cierto sentido, el ácido ascórbico, se encuentran fundamentalmente involucrados en el desarrollo de los hematíes. El ácido fólico participa en la maduración de los hematíes sólo después de su conversión en la forma biológicamente activa, el ácido fólico o factor citrovorum. El ácido ascórbico desarrolla un papel importante en dicha conversión. La vitamina B₁₂ constituye el factor extrínseco y el factor de maduración eritrocitaria. El factor intrínseco gástrico es necesario para la absorción de la vitamina B₁₂. Tanto el ácido fólico (o ácido fólico) como la vitamina B₁₂ sirven de coenzimas en la síntesis de ácido nucleico mediante la formación de timina y timidina^(Pranker, 1995).

El equilibrio fisiológico entre la formación y la destrucción eritrocitaria consigue un valor constante en el número y volumen hemático. En el mantenimiento de este equilibrio participan ciertos mecanismos reguladores, que se manifiestan por la estimulación de la eritropoyesis después de una hemorragia o tras la permanencia en atmósferas con tensiones bajas de oxígeno^(Eastman,1993; Pranker,1995).

La anoxia de la médula ósea es el estímulo principal de la eritropoyesis, como se demuestra por la existencia de poliglobulina en estados de hipoxia crónica, y por la inhibición de la eritropoyesis cuando la concentración de oxígeno aparece aumentada. Aún no se sabe bien si la anoxia actúa directamente sobre la médula ósea o sobre el organismo induciéndole a producir un efecto estimulante. Es posible que las bajas tensiones de oxígeno estimulen la actividad de la médula ósea por mediación de un factor humoral, la hemopoyetina o eritropoyetina^(Eastman,1993; Pranker,1995; Stohlman,1992; Erslev,1993).

La eritropoyetina actúa directamente estimulando la diferenciación en eritroblasto de la célula mesenquimal primitiva indiferenciada^(Stohlman,1992). Se han formulado teorías contradictorias concernientes al papel que desarrolla la eritropoyetina en la regulación de la eritropoyesis. Una de ellas afirma que el grado de formación eritrocitaria es controlado por la eritropoyetina trasladada por el plasma a las zonas de hematopoyesis. Otros sugieren un esquema más complejo en el cual al menos dos eritropoyetinas distintas desarrollarían funciones diferentes en el curso de este proceso (factor termolábil y termostable)^(Stohlman,1992; Stohlman,1989; Erslev,1993).

Después del nacimiento y en condiciones normales se produce un aumento casi inmediato de la oxigenación de la sangre; los valores de tensión de oxígeno del adulto se alcanzan a las tres horas del nacimiento. En los recién nacidos de 1 día o más de edad no se encuentra eritropoyetina en el plasma. De este modo se confirma el concepto de que el descenso de la eritropoyesis al nacer es debido a una mayor aportación de oxígeno, lo cual supone una reducción de las necesidades de hemoglobina. Si el descenso posnatal de la eritropoyesis se originara por un fallo de la médula ósea, cabría la posibilidad de encontrar

valores altos de eritropoyetina como en la anemia aplásica. La disminución de la eritropoyesis no es debida a un déficit en la producción de eritropoyetina, ya que los recién nacidos son capaces de producir eritropoyetina en respuesta a estímulos hipóxicos^(Eastman,1993; Stohltman,1989,1992).

DESTRUCCIÓN NORMAL DE LOS HEMATÍES.

El más importante de todos los fenómenos que derivan de la destrucción de los hematíes es el de excreción del pigmento biliar, incluyendo todos los pasos intermedios que conducen a ella.

**VIDA MEDIA DE LOS HEMATÍES.*

La vida media de los hematíes en la circulación es aproximadamente de 120 días^(Prankerd,1995). Esta cifra corresponde a un valor normal de restitución de 0.83% por día.^(Gross,1993; Shojania,1994; Gabrio,1996)

El cromato sódico radiactivo puede utilizarse eficazmente para medir el total de hematíes circulantes, el volumen sanguíneo, la supervivencia de los hematíes y sirve también para poder localizar los lugares de destrucción hemática. El método de los hematíes marcados mediante cromo radiactivo ha remplazado con éxito otras técnicas que resultaban mucho más laboriosas. Este método constituye un medio muy sencillo para estudiar la supervivencia de los hematíes en individuos normales y en enfermos afectados por distintos trastornos hemáticos. Al reinyectar en la circulación del enfermo sangre que ha sido mezclada con radiocromato sódico se mide la longevidad de los hematíes en su medio natural. Dentro del hematíe el cromo se une intensamente a la globina de la molécula de hemoglobina. Se ha encontrado que la supervivencia media de los hematíes marcados con Cr^{51} oscila entre 26 ± 2 días y 33.1 ± 3.2 días. Se ha comprobado una considerable disminución de la vida media en muchas anemias hemolíticas intrínsecas y en los trastornos hemáticos que se acompañan de un componente hemolítico^(Gross,1993; Shojania,1994; Gabrio,1996).

**VIDA MEDIA DE LOS HEMATÍES DE LOS RECIÉN NACIDOS.*

No han sido siempre concordantes los trabajos efectuados en los recién nacidos, prematuros y a término, referentes a la vida media de sus hematíes. En uno de los trabajos en donde Gabrio marcó con cromo radiactivo hematíes fetales, se encontró que estos alcanzaban valores de 15 a 23 días de vida media en comparación con los 24 y 35 días de los hematíes adultos, mientras que en otro ensayo se encontró una vida media prácticamente normal (23 a 25 días) en recién nacidos a término durante los 5 primeros días de vida, en tanto que en recién nacidos prematuros la vida media fue de menos de 20 días^(Gabrio,1996). Estos hallazgos indican que los hematíes de los recién nacidos a término poseen durante los primeros cinco días de vida una supervivencia semejante a la de los adultos, en tanto que en los prematuros la supervivencia de los hematíes se encuentra disminuida. La diferencia entre los resultados normales encontrados en estas observaciones y los valores disminuídos de la vida media de los hematíes en recién nacidos prematuros obtenidos en otros trabajos, puede deberse a la diferencia entre los hematíes del tipo adulto formados después del nacimiento y los constituídos en el útero^(Pranker,1995; Gabrio,1996).

El envejecimiento de los hematíes se asocia a una disminución de la actividad enzimática, así como a otros trastornos del metabolismo celular. Los hematíes normales viejos tienen una actividad de la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa disminuída. Los hematíes que se acercan al final de su período de vida producen menos energía en forma de adenosintrifosfato (ATP), con lo que se hacen más susceptibles a los efectos destructivos de la oxidación^(Gabrio,1996).

**HEMOLISIS NORMAL.*

Con un período normal de 120 días, aproximadamente se eliminan de la circulación el 1% de los hematíes^(Gabrio,1996). En condiciones normales los hematíes gastados son excluídos de la circulación por las células del sistema reticuloendotelial situadas en el bazo, médula ósea, hígado y en menor proporción, en otros tejidos. El principal proceso fisiológico mediante el cual se destruyen los hematíes es la fragmentación debida a los

efectos traumáticos de la circulación^(Erslev,1993). La eritrofagocitosis que tiene lugar en el bazo y los factores líticos presentes en el plasma y los tejidos son agentes que contribuyen al proceso fisiológico. En alguna ocasión puede observarse fagocitosis de hematíes intactos en la sangre periférica y en la médula ósea de enfermos afectados de eritroblastosis o leucemia aguda^(Gross,1993; Erslev,1993).

La fagocitosis y la hemólisis pueden formar parte del proceso fisiológico, no obstante, estos factores ejercen su mayor acción en los estados patológicos. De este modo se forman los hematíes fragmentados (esquistocitos), que también pueden formarse por agotamiento de los sistemas enzimáticos que controlan la integridad de la célula o de su membrana. La estasis sanguínea en el bazo puede también contribuir a la desintegración de los hematíes alterando su esfericidad o su fragilidad osmótica^(Gross,1993; Erslev,1993; Gabrio,1996).

**HEMÓLISIS INMUNE.*

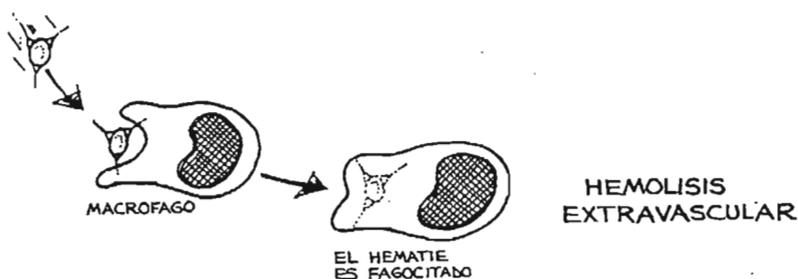
Como ya se ha mencionado, la disminución de la supervivencia de los hematíes en el organismo se conoce con el nombre de hemólisis, la cual puede estar producida por factores intrínsecos o extrínsecos a los hematíes^(Granick,1994; Grant,1992; Pranker,1995; Adams,1991).

La destrucción extrínseca a menudo está producida por mecanismos inmunes; la hemólisis inmune puede ser una peligrosa consecuencia de la transfusión sanguínea, en la que se produce un acortamiento de la vida media de los hematíes transfundidos. También puede presentarse en pacientes después del uso de ciertos fármacos, en algunas infecciones y en trastornos autoinmunes^(Adams,1991).

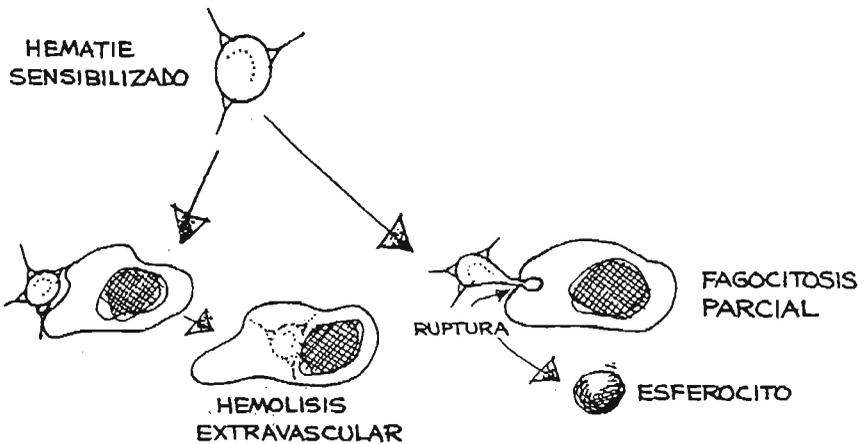
La destrucción inmune de los hematíes puede estar causada por IgG solamente o por la activación del complemento^(De Alarcón,1996; Martin,1997).

La fijación de IgG a los hematíes no afecta directamente a la célula, pero hace que ésta sea fagocitada por los macrófagos; este proceso se conoce con el nombre de hemólisis

extravascular. Los macrófagos se hallan en la circulación y en los tejidos del organismo. Colectivamente, los macrófagos constituyen el sistema mononuclear fagocítico^(Kumpel,1995; Contreras,1989)



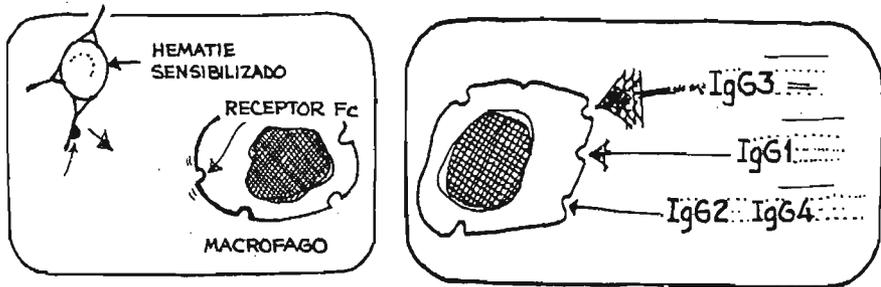
El bazo es el principal punto donde tiene lugar la captura de los hematíes sensibilizados ya que: en él se forman anticuerpos; su estructura y la presencia de los macrófagos aumentan la probabilidad de la fagocitosis y de formación de esferocitos, los cuales quedan atrapados en los capilares fenestrados de la microcirculación esplénica. La anatomía del sistema vascular esplénico hace que el plasma sea separado, aumentando el hematocrito hasta alcanzar un valor del 80%. Con esto, las ocasiones de contacto de los hematíes sensibilizados con los macrófagos aumentan considerablemente. El bazo contiene muchos linfocitos y macrófagos. La gran cantidad de linfocitos B existente puede dar como resultado una concentración elevada de anticuerpos, aumentando así la probabilidad de sensibilización de los hematíes. Los macrófagos se fijan a las IgG unidas a los hematíes. Si el hematíe es ingerido totalmente por el macrófago, las enzimas de este último se encargan de lisarlo; este proceso se denomina **hemólisis extravascular**^(Kumpel,1995; Contreras,1989). Con mayor frecuencia, lo que sucede es que el macrófago separa solamente una porción de la membrana del hematíe, mientras el resto escapa a la fagocitosis. Debido a la pérdida de un fragmento de la membrana sin pérdida del contenido celular, el hematíe se hace más pequeño y toma una forma esférica, recibiendo entonces el nombre de esferocito.



Los hematíes que han perdido su flexibilidad quedan atrapados en la microcirculación esplénica. El diámetro medio de un hematíe normal es de 7-8 μ , pero el hematíe es lo bastante flexible para pasar a través de los poros del bazo, cuyo diámetro es solamente de 0.5-1 μ . Los esferocitos, que han perdido flexibilidad, quedan atrapados en los capilares del bazo y son retirados de la circulación^(Kuntzel, 1995; Contreras, 1989). Aunque el bazo es el principal lugar donde se produce la captura de los hematíes sensibilizados con IgG, los hematíes fuertemente sensibilizados pueden ser separados por los macrófagos en otros órganos. La rapidez con que un hematíe sensibilizado es separado de la circulación depende de varios factores: la cantidad de anticuerpo fijado a la superficie del mismo, la subclase de IgG, la activación del complemento y la acción de las células mononucleares fagocíticas^(Brouwers, 1987).

Los macrófagos tienen receptores Fc que se unen al dominio CH₃ de la molécula de IgG. El macrófago debe diferenciar entre IgG libres en el plasma e IgG unidas a los hematíes. La capacidad para diferenciarlas depende de la cantidad de anticuerpo fijado a la superficie de los hematíes (densidad del anticuerpo). Existe una buena correlación entre la

tasa de destrucción de los hematíes y la cantidad de autoanticuerpo fijado a los mismos. La correlación no es tan buena para los hematíes sensibilizados con autoanticuerpos^(Brouwers, 1987; 1988).



Los hematíes recubiertos con IgG y complemento son retirados de la circulación más rápidamente que los que únicamente están sensibilizados con IgG. La capacidad de las IgG para fijar complemento depende de la densidad del antígeno, la concentración de anticuerpo fijado a los hematíes y el grado de agrupación de los antígenos situados en la superficie de los hematíes^(Brouwers, 1987; 1988).

*HEMÓLISIS COMPENSADA.

Los procesos de formación y destrucción hemática están normalmente equilibrados de tal manera que la concentración de hemoglobina y el número de hematíes en la sangre circulante permanece inalterada^(Beutler, 1989). En estado de equilibrio se restituyen diariamente los hematíes y la hemoglobina destruida. Si se incrementa la destrucción hemática se acelera la actividad de la médula ósea, de modo que se produce mayor cantidad de hematíes y de hemoglobina con lo que se restablece el equilibrio. Dentro de ciertos límites, un incremento de la hemólisis puede no reflejarse en forma de anemia si la médula ósea del enfermo es suficientemente activa para compensar^(Beutler, 1989; 1991). Según Crosby y Akeroyd sólo aparece una anemia hemolítica cuando el período de vida de los hematíes (el normal es de 120 días) se reduce de tal manera que la médula ósea, aún trabajando a su máximo rendimiento (6 a 8 veces el normal), no puede mantener una suficiente producción de hematíes y de hemoglobina. Estos autores ponen de relieve el hecho de que una hemólisis

anormal sin anemia indica un proceso hemolítico compensado y que el rasgo subyacente del proceso hemolítico es la reducida supervivencia de los hematíes. Si se superan estos límites se desarrolla la anemia; el equilibrio si bien es estable, supone un nivel hemoglobínico anémico. En cualquier momento de la enfermedad hemolítica, todo valor hemoglobínico es resultado de la relación entre la intensidad de la hemólisis y la capacidad de la médula ósea para responder a ella con un incremento de la síntesis hemoglobínica y de la producción celular^(Lisker,1992).

El concepto de enfermedad hemolítica compensada es importante para poder valorar el estado hemático en aquellos casos en que los valores eritrocíticos aparezcan indebidamente altos en un proceso hemolítico conocido. Por este mecanismo puede no aparecer anemia en la esferocitosis hereditaria (anemia hemolítica familiar), y tampoco manifestarse en la forma benigna de la anemia mediterránea (talasemia *minor*), en cuyo caso puede presentarse alguna vez una hipercompensación, de la que resulta una poliglobulia y unos niveles de hemoglobina elevados. En estos casos puede detectarse un incremento de la hemólisis mediante pruebas de laboratorio adecuadas^(Beutler,1989,1991; Lisker,1992; Hillman,1995).

El incremento de los reticulocitos es un índice sencillo que nos indica la presencia de un proceso hemolítico compensado. En la eritroblastosis fetal, un incremento de los reticulocitos asociado con valores eritrocitarios normales en el primer día de vida, puede ser un indicio de un incremento en la destrucción globular e indicarnos la necesidad de una vigilancia estrecha en los días sucesivos ante la posibilidad de desarrollo de una anemia o de una ictericia. En las crisis propias de la anemia de células falciformes, los valores de la hemoglobina quedan muchas veces inalterados, pero el incremento de los reticulocitos refleja una actividad medular compensadora^(Hillamn,1995).

HEMOGLOBINA. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN.

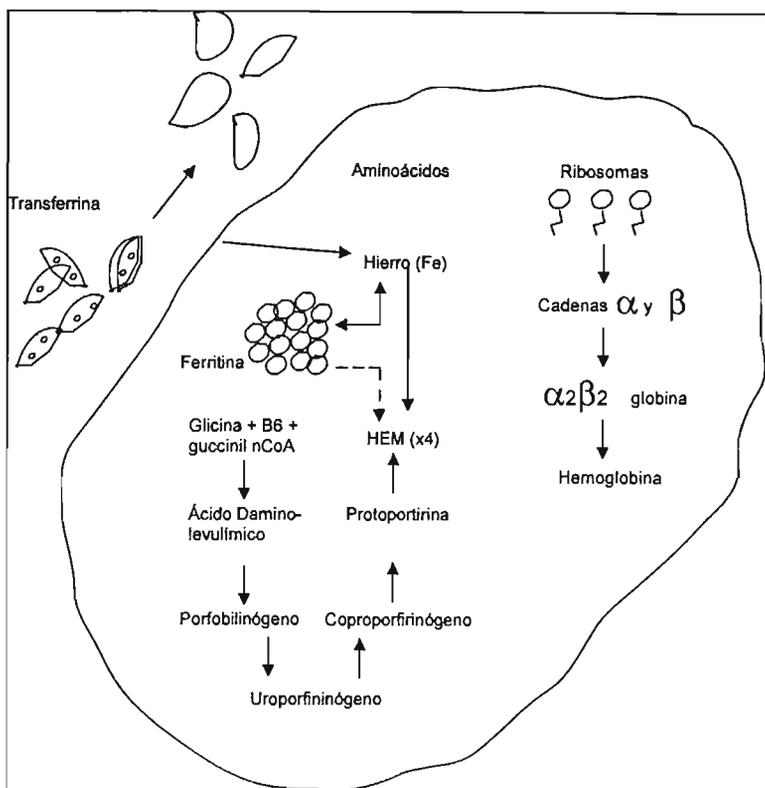
La hemoglobina es el resultado de la conjugación de un pigmento (grupo hemo) y una proteína (globina). El grupo hemo está formado por una porfirina (unión de cuatro grupos pirrólicos) en combinación con hierro en estado ferroso. El grupo hemo es el pigmento que le confiere color rojo a los hematíes. La porfirina de la hemoglobina es estructuralmente una protoporfirina. En la síntesis del grupo hemo la protoporfirina se elabora mediante la interacción de glicina y succinato activo. Experimentos *in vitro* sugieren que la biosíntesis del grupo hemo, a partir de hierro y protoporfirina, depende de acciones enzimática^(Contreras, 1989; Hoffbrand, 1988).

Se ha encontrado que en los hematíes jóvenes de los mamíferos, y especialmente en las aves, la síntesis del grupo hemo es a partir de glicina y succinato. Las enzimas encargadas de la síntesis del grupo hemo pueden dividirse en tres grupos. El primer grupo sintetiza la succinil co-enzima A uniéndola a la glicina para formar ácido γ -aminolevulínico, que está ligado a ciertas partículas celulares, probablemente a las mitocondrias. El segundo grupo se compone de enzimas solubles que convierten el ácido γ -aminolevulínico en coproporfirinógeno. El último grupo convierte el coproporfirinógeno en protoporfirina y en hemo.

La hemoglobina puede considerarse como una protoporfirina ferrosa con la siguiente composición:

Protoporfirina + hierro = hemo

hemo + globina = hemoglobina.



El grupo hemo se halla también en la mioglobina (hemoglobina muscular) y en las enzimas respiratorias, tales como los citocromos. La función básica del grupo hemo consiste en transportar oxígeno y ponerlo a disposición de la célula. La hemoglobina se combina débilmente con el oxígeno formando oxihemoglobina. Esta asociación inestable permite la difusión del oxígeno a los tejidos donde es utilizado en los procesos oxidativos.

El hierro forma parte de la oxigenación reversible como complejo porfirínico de hierro y es el elemento clave de los pigmentos respiratorios, de la hemoglobina, de la mioglobina y de los sistemas enzimáticos oxidativos, tales como los citocromos, las peroxidases y las catalasas. El hierro de la hemoglobina permanece en estado ferroso a lo largo de todo el proceso respiratorio. Por otra parte, la metahemoglobina es el grupo hemo

oxidado formado a partir de hemoglobina reducida, en la cual el hierro se encuentra en estado férrico y es incapaz de actuar como transportador de oxígeno. El componente proteico de la hemoglobina, la globina, se sintetiza a partir de aminoácidos procedentes de las proteínas destruidas de la globina de los hematíes. Es necesario para una completa síntesis de hemoglobina, el adecuado suministro proteico^(Contreras, 1989; Hoffbrand, 1988).

HEMOGLOBINA FETAL.

La primera demostración de que existían diferencias entre la hemoglobina fetal y la materna se realizó al comprobar el aumento de la resistencia a la desnaturalización alcalina observada en la hemoglobina fetal. La hemoglobina fetal representa del 45% al 90% del niño al nacer, y es remplazada con rapidez en el curso del primer año por hemoglobina adulta. Normalmente persiste hasta el primer año de vida alrededor de un 15% de la hemoglobina fetal, un 5% hasta los dos años y menos del 2% después de los cuatro años. En muy pocas ocasiones es comprobable a los 30 meses del nacimiento. Algunas veces se observan pequeñas cantidades de hemoglobina alcalino-resistente después de los 4 años^(Abrahamov, 1996).

El porcentaje de hemoglobina fetal en la sangre del cordón umbilical da resultados más exactos si se determina por cromatografía en lugar de emplear el método de desnaturalización alcalina. Por cromatografía el porcentaje de hemoglobina fetal en niños a término es relativamente pequeño (79-91% con un promedio de un 85.5%). Un número reducido de niños prematuros nacidos antes de las 37 semanas presentaron valores de hemoglobina fetal del 91% o más altos. En realidad y con pocas excepciones el valor hemoglobínico fetal de 91% es el punto que, con pocas excepciones, divide los prematuros de los recién nacidos a término.

La hemoglobina fetal se encuentra en las primeras edades del feto (9 a 13 semanas y media) en concentraciones muy elevadas, no obstante, un pequeño porcentaje de hemoglobina adulta está presente a la misma edad. La hemoglobina adulta ha sido

observada en fetos de 13 semanas. En un feto de 20 semanas el 94% de la hemoglobina adulta parece incrementarse de manera muy lenta con el desarrollo, no siendo posible asignar ningún lugar de origen distinto para cada uno de los dos pigmentos. El paso de la eritropoyesis fetal a la adulta se produce de modo gradual y es probable que sea el resultado de una maduración genética controlada por un mecanismo de síntesis intracelular^(Hoffbrand,1988; Thompson,1993).

Cook y colaboradores, en 2001, demostraron que en niños nacidos de 34 semanas de gestación existe una relación inversa entre la edad gestacional y el porcentaje de hemoglobina fetal. La mayoría de los niños nacidos antes de las 36 semanas de gestación poseen al nacer más del 90% de hemoglobina fetal y los nacidos después de las 36 semanas tienen generalmente menos del 90%. A partir de la semana 34 de gestación el porcentaje de hemoglobina fetal desciende aproximadamente de un 3 a 4% cada semana prenatal, cifra similar a la de descenso posnatal.

En personas sanas puede encontrarse hemoglobina fetal en cantidades apreciables. A este estado se le denomina *persistencia hereditaria de hemoglobina fetal alta*, y se considera como una anomalía hereditaria específica, manifestada a lo largo de la vida por la presencia de grandes cantidades de hemoglobina fetal en los hematíes sin que coexista anemia y otras manifestaciones clínicas.

****MECANISMO DE PASO DE HEMOGLOBINA FETAL A HEMOGLOBINA ADULTA.***

Uno de los más desconcertantes aspectos de la síntesis hemoglobínica es el mecanismo mediante el cual se pasa de la síntesis de Hb_f a Hb_a en el momento del nacimiento y en menor grado, al final de la vida fetal. También resulta difícil explicar la persistencia de niveles más o menos elevados de la Hb_f en algunos adultos y su excesiva producción en hemoglobinopatías (por ejemplo talasemia mayor) y en situaciones de estrés (por ejemplo leucemia, anemia aplásica). Esta transferencia de proteína fetal a proteína adulta representa un cambio dinámico a nivel molecular^(Zipursky,1982).

La Hb_a contiene 4 cadenas polipeptídicas, dos α y dos β y que la Hb_f contiene dos cadenas α y dos γ . Estas tres cadenas de polipéptidos son químicamente distintas. La producción de cadenas α permanece constante, puesto que es necesaria para la formación de las dos Hb_f y Hb_a. La cadena γ decrece con rapidez después del nacimiento y desciende hasta casi su total desaparición cuando el niño ha alcanzado los 6 meses de edad, mientras por el contrario se va incrementando la producción de la cadena polipeptídica β , constituyente de la Hb_a. En consecuencia ello significa que el gen que controla la producción de la cadena α actúa constantemente, que el gen que controla la producción de la cadena γ decrece de modo gradual, en tanto el gen de la cadena β entra paulatinamente en acción^(Zipursky,1982).

Este fenómeno se ha explicado de modo más complejo basándose en un sistema integrado por genes reguladores, operadores y estructurales. Este método de paso de la formación de hemoglobina fetal a hemoglobina adulta asegura al adulto Hb_a y Hb_f al feto. El problema aún no aclarado, es por qué los eritroblastos fetales producen cadenas γ y pocas o casi ninguna β , en tanto que lo opuesto es aplicable a los eritroblastos de un niño mayor de 6 meses^(Zipursky,1982; Hoffbrand,1988).

ICTERICIA NEONATAL.

FORMACIÓN DE BILIRRUBINA.

La bilirrubina deriva de la hemoglobina, es la fracción libre de globina y hierro de la molécula de hemoglobina. Al aumentar la destrucción de los hematíes durante la hemólisis, se incrementa la formación del pigmento biliar. Al tiempo que el hierro se desune, el compuesto existe durante un cierto tiempo como complejo globina-bilirrubina. Tras la pérdida del hierro se forma el pigmento biliverdina. La separación de la globina y la degradación a bilirrubina tiene lugar probablemente en el sistema reticuloendotelial. La globina entra en el pool proteico del organismo en forma de aminoácidos para ser utilizados en la formación de hemoglobina^(Hillman, 1995; Hoffbrand, 1988).

El pigmento bilirrubina se forma en los elementos del sistema reticuloendotelial del bazo, ganglios linfáticos, médula ósea, hígado y tejido conjuntivo (probablemente la médula ósea es el principal lugar de formación). Alrededor del 10 al 15% del pigmento biliar total proviene de otros precursores distintos a la hemoglobina, como son el hemo no utilizado en la síntesis de hemoglobina, de las mioglobinas, de las peroxididasas, la catalasa y los citocromos. Los pigmentos biliares en el suero humano alcanzan valores de 0.5 a 0.8mg por 100cm³ de sangre. En enfermos con anemia hemolítica crónica estos valores alcanzan cifras de 1 a 3mg y rara vez superan los 5mg. Si se observan valores de bilirrubina normales en enfermos con anemia hemolítica, ello es debido a la capacidad del hígado sano de excretar el exceso de pigmento. El incremento de la bilirrubina indirecta en el plasma de los enfermos con eritroblastosis y en aquellos que padecen crisis hemolíticas es debido a una sobrecarga hepática de sustancias procedentes de la destrucción hemática^(Gartner, 1987).

**CLASIFICACIÓN DE LA ICTERICIA NEONATAL.*

Gartner publicó en 1987 que la bilirrubina existe en cuatro diferentes formas en el suero:

- 1.- Bilirrubina no conjugada unida en forma reversible a la albúmina sérica (esta forma la mayor porción de bilirrubina no conjugada en el suero).
- 2.- Bilirrubina no conjugada “libre”, no unida a la albúmina (fracción relativamente menor).
- 3.- Bilirrubina conjugada (principalmente mono y diglucuronidos), fácilmente excretables a través del sistema biliar o renal.
- 4.- Bilirrubina conjugada, unida en forma covalente a la albúmina sérica (bilirrubina “delta”).

Las primeras dos dan una reacción “indirecta” con reactivos diazo estándar, mientras que las últimas dos formas dan una reacción “directa”. La bilirrubina “delta” parece estar virtualmente ausente en el neonato normal, pero se encuentra en cantidades significativas en niños más grandes y en aquellos con hiperbilirrubinemia conjugada que resulta de diversas alteraciones hepáticas.

La mayor fuente de bilirrubina indirecta es la destrucción de los hematíes y de las proteínas que contienen grupo hemo. La eritropoyesis inadecuada produce una cantidad menor. En el sistema reticulo endotelial, las proteínas con grupo hemo sufren la acción de la enzima hemoxigenasa para convertir al grupo hierro en biliverdina. Esta a su vez, por la acción de la biliverdina-reductasa, es transformada en bilirrubina indirecta, la cual pasa al torrente sanguíneo. Un gramo de hemoglobina produce 35mg de bilirrubina. Una vez en la sangre, la bilirrubina es transportada principalmente por la albúmina, A su paso por el hígado, la bilirrubina indirecta es captada por las ligandinas (proteínas “Y” y “Z”) las cuales la introducen al hepatocito donde es conjugada con el ácido glucorónico a mono y diglucuronato de bilirrubina, para luego ser excretada a las vías biliares y al intestino. Una vez ahí, parte de la bilirrubina es desconjugada por la acción de la enzima glucoronidasa y reabsorbida hacia el torrente sanguíneo (circulación enterohepática). Otra parte de la bilirrubina conjugada dentro del intestino sufre la acción de las bacterias donde es transformada en estercobilinógeno (eliminada en las heces) y urobilinógeno, el cual se reabsorbe y se elimina por riñón.

Cada uno de estos pasos puede estar alterado o incrementado en el neonato. Los niños nacen con una masa eritrocitaria aumentada, con glóbulos rojos que tienen una vida media menor que los del adulto. Además están expuestos a trauma durante el parto, lo que incrementa la formación de cefalohematomas o equimosis lo que se traduce en incremento en la producción de bilirrubina. También el neonato puede recibir medicamentos que compitan con la bilirrubina por su sitio de unión en la albúmina. Durante la vida fetal, no se necesita el transporte ni la conjugación de la bilirrubina por el hígado, ya que la placenta realiza estas funciones, por lo que los sistemas enzimáticos neonatales deben ser inducidos en los primeros días de vida. La ingesta de alimento después del nacimiento puede estar limitada en el recién nacido, principalmente si es alimentado al seno materno, lo cual produce una motilidad intestinal disminuida, así como la adquisición lenta de flora intestinal normal que lleva a un aumento de la circulación enterohepática de bilirrubina.

La hiperbilirrubinemia caracterizada por la retención de bilirrubina no conjugada o indirecta es por mucho el tipo más común de hiperbilirrubinemia en el recién nacido. La bilirrubina no conjugada es el tipo de pigmento encontrado en la "ictericia fisiológica" y en los estados patológicos en los cuales hay una incrementada producción de bilirrubina, disminución de la conjugación o disminución de la captación hepática de bilirrubina. La hiperbilirrubinemia conjugada es menos común en el neonato y más frecuentemente denota una alteración grave de la función hepática, particularmente una interferencia con la excreción de bilirrubina por el hígado hacia la bilis o por obstrucción del flujo de bilis en el árbol biliar. Aproximadamente 90% de los neonatos tienen concentraciones de bilirrubina sérica mayores que las del adulto. La mayoría de los recién nacidos se tornarán icterícos generalmente después del segundo día de vida. El reto de la ictericia neonatal es distinguir lo fisiológicamente normal de lo patológico, y de la situación benigna hasta la que pone en peligro la vida. En la ictericia no fisiológica deberá de buscarse una explicación a través de una investigación adecuada.

El diagnóstico de ictericia fisiológica en neonatos de término y pretérmino sólo puede ser establecido al excluir causas conocidas de ictericia sobre la base de una historia

clínica y estudios de laboratorio adecuados. Algunos de los criterios que excluyen la hiperbilirrubinemia fisiológica es que: 1)aparezca en las primeras 24 horas, 2)que exceda una concentración de bilirubina de 14.5mg/dL en el niño alimentado con leche materna o de 11.5mg/dL en el que se alimenta con fórmula., 3)incremento de la bilirubina directa por arriba de 2mg/dL y 4)ictericia clínica que persista por más de 2 semanas. A excepción de los niños alimentados al seno materno, un incremento de bilirubina de más de 5mg/dL también requiere investigación. El egreso temprano del binomio madre hijo antes de las 48 horas del nacimiento ha venido a complicar el panorama, ya que la principal causa de reingreso neonatal es la hiperbilirrubinemia^(Maisels,1998; Braveman,1995).

GRUPOS SANGUINEOS.

Determinadas sustancias de la superficie de los hematíes se denominan aglutinógenos, los cuales están presentes en ciertos individuos y ausentes en otros. El aglutinógeno de los grupos sanguíneos es un antígeno situado en la superficie del hematíe que se combina con un anticuerpo específico. Su especificidad está en función de los mucopolisacáridos. Clínicamente los grupos sanguíneos ABO y Rh son los más importantes.

Los anticuerpos anti-Rh y los anticuerpos de numerosos grupos sanguíneos menores no presenta, en condiciones normales, concentraciones séricas elevadas; en cambio el suero de un individuo normal contiene anticuerpos del grupo ABO. Los aglutinógenos ABO y Rh son antigénicos, por lo que, si se introducen en un individuo que no los posea, desencadenan la formación de anticuerpos. Si suspendemos hematíes que contengan uno de estos antígenos en un suero que contenga el correspondiente anticuerpo, éste se une al antígeno resultando una aglutinación de los hematíes. En algunos casos (no en Rh) los hematíes aglutinados pueden sufrir hemólisis^(American Association of Blood Bank, 1997). Es importante diferenciar los distintos grupos sanguíneos debido a que pueden producirse reacciones hemolíticas si transfundimos hematíes en receptores que posean los correspondientes anticuerpos en su circulación, al igual que sucede en el embarazo cuando anticuerpos de origen materno cruzan la placenta combinándose con los hematíes fetales. Por ello los grupos sanguíneos ABO y Rh son de importancia primordial en la patogenia de las reacciones hemolíticas transfusionales y en la eritroblastosis fetal (enfermedad hemolítica perinatal).

Siguiendo la corriente de Bramilow, descrita en 1977, se definirán los siguientes términos para comprender la relación entre los grupos sanguíneos:

**Isoinmunización.-* Formación de anticuerpos como consecuencia de la inyección de hematíes con aglutinógenos de un grupo sanguíneo específico, administrados a individuos de la misma especie y que carecen de estos antígenos.

**Aglutinógenos.-* Sustancias que se encuentran en la superficie de las células (hematíes y bacterias), cuya unión con el correspondiente anticuerpo conduce a su aglutinación.

**Grupos sanguíneos.-* Son los factores serológicos de los aglutinógenos de los hematíes. Los aglutinógenos de los hematíes se caracterizan por poseer varios factores sanguíneos, que inducen la formación de varios anticuerpos. Mediante pruebas realizadas con distintos antisueros, es posible identificar la serie de factores sanguíneos que caracterizan a cada aglutinógeno.

**Determinación de los grupos sanguíneos.-* Se realiza mediante el empleo de antisueros específicos; las muestras hemáticas se clasifican en grupos o tipos basándose en los factores o aglutinógenos sanguíneos que contienen.

**Prueba cruzada.-* Comprueba la compatibilidad entre el suero del receptor y los hematíes del donante. Esta prueba se debe llevar a cabo en todos los casos, incluso si el receptor y el donante pertenecen a un mismo grupo, ya que existen subgrupos y otros grupos menos comunes.

**Heteroinmunización.-* Inmunización producida por la inyección de hematíes en individuos de otra especie.

**Alelos o alelomorfos.-* Formas alternativas de un gen que ocupan la misma posición en un par determinado de cromosomas. Cada cromosoma contiene una serie de lugares o loci ocupados por genes diferentes.

**Homocigotos.-* Individuos que poseen genes alelos idénticos en los dos loci correspondientes de un par de cromosomas.

**Heterocigotos.-* Individuos que poseen alelos distintos en los loci correspondientes de un par de cromosomas.

**Título.-* Cantidad relativa de anticuerpos que se determina midiendo la mayor dilución del suero que permite apreciar aglutinación (en este caso de hematíes), y está dado por la última dilución en que se presenta aglutinación.

**Embarazo heterospecífico.-* Embarazo cuyo feto posee hematíes que contienen un factor A o B que no se encuentra presente en los hematíes de la madre. Del mismo modo la sangre materna contiene aglutininas anti-A o anti-B que son incompatibles con los aglutinógenos A y B presentes en los hematíes del feto.

**Fenotipo.-* Características de un individuo que se ponen de manifiesto mediante la observación directa. De este modo los ojos azules, la talla, hemofilia, grupo O, Rh positivo, etc, son todos ellos fenotipos.

**Genotipo.-* Constitución genética de un individuo para una característica particular (en este caso los grupos sanguíneos). El genotipo se transmite a través de los cromosomas de las células germinales. Un ser humano normal posee 23 pares de cromosomas: 22 de ellos son autosomas. En el caso de las hembras, estas poseen un par de cromosomas X, y los varones un cromosoma X y un Y. Los genes de todos los grupos sanguíneos conocidos, incluyendo el Rh-Hr, se transmiten por medio de uno de los autosomas. Recientemente se ha descubierto un grupo sanguíneo Xg ligado al cromosoma X.

**Propositus (Proband).-* Nombre que se le da al miembro de la familia cuyo grupo sanguíneo (u otra característica física o mental presente) induce a un estudio hereditario o genético.

**Polimorfismo.-* Es la incidencia en un mismo habitat de dos o más formas heredadas de una variedad, en proporción tal, que la menos numerosa sea lo bastante frecuente para poder descartar que su existencia sea debida a mutaciones múltiples. Se considera que los polimorfismos surgen como resultado de diferencias selectivas entre los genotipos. Puede existir en la población un número importante de polimorfismo como consecuencia de una enfermedad y de factores ambientales, así como también puede deberse a otros factores. Los rasgos polimórficos existentes entre el sistema ABO y otros grupos sanguíneos, se deben a las hemoglobinas, a la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, y a los antígenos trombocíticos o leucocitarios. Los polimorfismos de las proteínas séricas incluyen las haptoglobinas, las transferrinas, las globulinas γ , lipoproteínas β , sustancias específicas de grupo, colinesterasa sérica y esterasa sérica.

GRUPOS SANGUINEOS ABO.

La sangre de todo individuo pertenece a uno de los cuatro grupos sanguíneos principales. Los antígenos contenidos en los hematíes son los que determinan el grupo sanguíneo. La presencia o ausencia de cada uno de estos aglutinógenos sanguíneos puede detectarse mediante su aglutinación, utilizándose para ello sueros específicos anti-A y anti-B de título elevado. Puesto que los anticuerpos anti-A y anti-B se encuentran constantemente en la sangre de los individuos que carecen del correspondiente antígeno (Ley de Landsteiner), puede confirmarse la validez de estas pruebas añadiendo suero problema inactivado a una suspensión de hematíes A y B conocidos^(Brouwers, 1988).

Los antígenos pertenecientes al sistema ABO no sólo están presentes en los hematíes, sino también en otras células del organismo así como en la mayoría de sus líquidos. La presencia de los antígenos A, B u O en los hematíes depende de la herencia de los genes alélicos A, B y O. Un gen H situado en un locus separado codifica para la sustancia precursora sobre la que actúa el producto de los genes A y B. Estas son enzimas que actúan como transferasas específicas. El producto del gen H es una enzima que produce sustancia H. Las transferasas derivadas de los genes A y B son enzimas que convierten la sustancia H en antígeno A o B. El gen O es un alelo silencioso que no altera la estructura de la sustancia H; por tanto, los individuos del grupo O tienen grandes cantidades de sustancia H en sus células. De los individuos que no heredan un gen H (genotipo hh) se dice que pertenecen al fenotipo Bombay (O_h). Dichos individuos no producen sustancia H y por tanto, los genes A y B (si los tienen) no pueden expresarse. Los antígenos A y B son detectables al nacer, si bien no están plenamente desarrollados^(Kabat, 1996).

Los antígenos ABH del plasma, así como los de los hematíes, son glucolípidos. En las secreciones serosas y mucosas del organismo pueden estar presentes glucoproteínas solubles con actividad ABH. Existen dos tipos de sustancia precursora para los antígenos ABH: Tipo I y tipo II. Ambos constan de azúcares idénticos, pero la unión de los azúcares terminales difiere en ambos. El precursor de tipo I tiene una galactosa terminal (Gal) unida

a una N-acetilglucosamina subterminal (GlcNac) por una unión 1,3. Esos mismos azúcares se unen mediante un enlace 1,4 en el precursor del tipo II. Los antígenos ABH de los hematíes derivan de las cadenas de tipo II, mientras que, los antígenos ABH del plasma provienen del precursor de tipo I y de tipo II. La sustancia H, precursora de los antígenos A y B, se forma por adición de una fucosa (Fuc) a la galactosa terminal (Gal) ya sea en la cadena de tipo I o en la de tipo II. Después de añadirse la fucosa a la cadena de tipo II, la estructura que se obtiene se denomina H de tipo II. Se han identificado cuatro clases de sustancia H tipo II. H₁ y H₂ son cadenas rectas de glucolípidos, mientras que los tipos H₃ y H₄ tienen cadenas ramificadas^(Gartner, 1987).

La especificidad de los antígenos A y/o B está determinada por la adición de un monosacárido específico a la galactosa terminal de la sustancia H. El antígeno A se forma mediante la adición de N-acetilgalactosamina (GalNAc); el antígeno B por la adición de galactosa (Gal). Las enzimas que añaden los azúcares mencionados están codificadas por los genes A y B respectivamente^(Gartner, 1987).

**HERENCIA DE LOS GRUPOS SANGUINEOS ABO.*

La herencia de los grupos sanguíneos ABO depende de tres genes: A, B y O. Puesto que todo individuo hereda de cada uno de los progenitores un gen A, B u O, el apareamiento de estos genes en el cuerpo puede determinar seis posibles genotipos: AA, AO, BB, BO y OO. El gen A se puede presentar en dos formas A₁ y A₂. La primera de ellas es dominante y más frecuente. Cerca del 80% de los individuos que pertenecen al grupo A, se incluyen en el subgrupo A₁ en tanto que, sólo el 20% pertenecen al subgrupo A₂^(Gartner, 1987).

Los hematíes de individuos con genotipo AA no pueden diferenciarse de los hematíes pertenecientes a individuos con genotipo AO, así como tampoco es posible diferenciar los hematíes de individuos con genotipo BB y BO. Por tanto, no es posible distinguir mediante titulación con isoaglutininas A o B, los hematíes homocigotos AA y BB, de los heterocigotos AO y BO respectivamente^(Kabat, 1996).

Los genes A y B son dominantes en tanto que el O es recesivo. Algunos principios médico-legales y genéticos se han obtenido a partir del estudio de los grupos sanguíneos ABO. Para que se herede el grupo A o B, al menos uno de los padres ha de transmitir a sus descendientes el gen A o B. Si uno de los padres pertenece al grupo AB, sus descendientes no pueden pertenecer al grupo O, ya que al menos un gen dominante A o B será transmitido por el padre. Si ambos padres son del grupo O, los descendientes no pueden pertenecer a otro grupo distinto del O (genotipo HH o Hh). Es indudable que si un individuo pertenece al grupo AB, su genotipo queda automáticamente establecido como AB. Del mismo modo, si su grupo es O, su genotipo es HH o Hh^(Kabat, 1996).

**DESARROLLO DE LOS GRUPOS SANGUINEOS.*

Puede demostrarse la existencia de isoaglutinógenos A y B en el segundo y tercer mes de la vida fetal. Las isoaglutininas anti-A y anti-B se encuentran en la sangre del cordón umbilical a un título muy bajo, y desaparecen completamente en las primeras semanas o meses de la vida. Es indudable que las isoaglutininas del recién nacido no son propias de éste, si no que se han transferido pasivamente desde la madre a través de la placenta, ya que existe una gran similitud entre el suero de la madre y el del recién nacido en cuanto a las isoaglutininas. No obstante, en muchos embarazos la placenta ejerce claramente una función de barrera y evita que las isoaglutininas maternas se introduzcan entre los 3 y 6 meses de edad. Después del nacimiento, la cantidad de isoaglutininas asciende rápidamente, alcanzando su máximo nivel entre los 5 y 10 años de edad. A partir de entonces decrecen de modo gradual^(Roberts, 1961).

Se ha formulado la hipótesis de que los antígenos A y B de los hematíes fetales son más débiles que los de los recién nacidos y adultos. El antígeno A se ha estudiado con más precisión que el antígeno B. El antígeno A aumenta rápidamente durante los primeros meses de vida hasta los 5 meses. A partir de entonces sigue aumentando, aunque con menor intensidad, y alcanza los valores del adulto aproximadamente entre los 2 y los 4 años de edad^(Roberts, 1961).

**SECRETORES Y NO SECRETORES.*

Los grupos hemáticos A, B y O no existen únicamente en los hematíes, sino que, en aproximadamente un 80% de los seres humanos, dichos factores se encuentran también presentes en forma hidrosoluble, en los líquidos del organismo y en secreciones tales como la saliva, el jugo gástrico, la secreción nasal, el semen y el líquido amniótico. Los individuos en cuyas secreciones se encuentran presentes las sustancias de los grupos sanguíneos se conocen con el nombre de “secretores”, mientras que los “no secretores” carecen de dichas sustancias. La clasificación de un individuo en secretor o no secretor se realiza fácilmente mediante un análisis de saliva, ya que en ésta se encuentra en alta concentración. Se ha señalado que casi todos los no secretores de sustancias A, B y H poseen hematíes que aglutinan con el llamado suero anti-Le^(Kabat, 1996).

CAPITULO II. ERITROBLASTOSIS FETAL.

ENFERMEDAD HEMOLITICA PERINATAL.

La enfermedad hemolítica perinatal (EHPN) o eritroblastosis fetal se debe a la destrucción de los hematíes fetales por anticuerpos maternos incompatibles. Se cree que pequeñas cantidades de hematíes fetales pueden atravesar la placenta y penetrar en la circulación materna. Si el feto posee un factor eritrocítico del que la madre carece, ésta puede responder produciendo un anticuerpo específico, el cual puede entonces atravesar la barrera placentaria, entrar a la circulación fetal y destruir los eritrocitos del feto.

En 1932, Diamond y colaboradores lograron correlacionar todos los hallazgos clínicos asociados con la eritroblastosis fetal sin embargo, no lograron obtener con el conocimiento y las técnicas con que se contaba entonces, pruebas de la incompatibilidad sanguínea materno-fetal. En 1939, Levine y Stetson demostraron la presencia de un anticuerpo atípico en el suero de una mujer que había dado a luz un feto muerto. Sin embargo, no fue sino hasta 1941 que Levine y colaboradores, estimulados por el descubrimiento del factor Rh en 1940, comprobaron que una madre que había tenido un hijo con enfermedad hemolítica del recién nacido, era Rh-negativa, mientras que el niño y su padre eran Rh-positivos.

En general, la EHPN no se presenta hasta después de dos o más embarazos incompatibles. La probabilidad de que un primogénito padezca la enfermedad aumenta notablemente si la madre ha recibido anteriormente transfusiones. Cuando ya ha ocurrido un caso de EHPN, la enfermedad tiene tendencia a ser cada vez más grave en los embarazos incompatibles subsecuentes.

Aunque se considera que la mayoría de los casos de ENHP son causados por incompatibilidades Rh y ABO, los reportes indican que casi todos los demás factores sanguíneos conocidos pueden causar dicho padecimiento^(Linares,1996).

ENFERMEDAD HEMOLÍTICA ABO.

Como se mencionó, los anticuerpos que con mayor frecuencia producen EHPN son los del sistema ABO y Rh, siendo la primera más frecuente, pero su relación con muerte fetal o neonatal es menor que la segunda. En la literatura se señala que aproximadamente las dos terceras partes de los casos de EHPN se deben a incompatibilidad ABO. Su incidencia y severidad no muestran un comportamiento universal, pues en países anglosajones es una entidad muy benigna; sin embargo, en países de Sudamérica, el Caribe, Medio Oriente, Asia y Africa, la incompatibilidad ABO es causa de EHPN severa^(Contreras,1994; Lubenko,1994).

El 20% de todos los embarazos son ABO incompatibles. En estas circunstancias, la madre tiene aloanticuerpos anti-A o anti-B, siendo los hematíes fetales portadores de los correspondientes antígenos A o B. Por razones desconocidas, algunas mujeres tienen títulos elevados de anticuerpos anti-A o anti-B. En estas mujeres es probable que se presente algún caso de incompatibilidad fetomaterna ABO. Los recién nacidos de grupo sanguíneo A o B, cuya madre tiene un grupo sanguíneo distinto (generalmente O, aunque no siempre) pueden presentar anemia hemolítica perinatal con severidad variable. Estudios efectuados en tales casos, han demostrado la presencia de anticuerpos anti-A o anti-B de tipo IgM y aunque estas no pueden atravesar placenta, ocasionalmente puede haber madres que elaboren también anticuerpos IgG, que atraviesan la placenta reaccionando con los hematíes fetales portadores de los antígenos correspondientes^(Linares,1996).

La anemia grave es rara y a diferencia de lo que ocurre en la enfermedad hemolítica por Rh, destaca la presencia de esferocitos en la extensión sanguínea del niño y con frecuencia, la prueba directa de antiglobulina es sólo débilmente positiva. La aparición de

ictericia al primer día de vida constituye a menudo el primer signo que orienta hacia el diagnóstico. El mayor riesgo existente consiste en dejar de reconocer y de corregir la hiperbilirrubinemia antes de que llegue a lesionarse el sistema nervioso central^(Klempner, 1986).

SINTOMAS CLINICOS.

La sintomatología de la EHPN depende del grado de destrucción hemática, de la formación eritrocitaria y de la hematopoyésis extramedular que ocurre en el hígado.

Mollison en 1987, estableció que los datos clínicos principales son la ictericia, la anemia, la hepatoesplenomegalia, las petequias y en casos graves, las hemorragias y el edema. La hepatoesplenomegalia puede ser patente en el momento del nacimiento, o bien puede instaurarse a medida que la enfermedad progresa en la primera semana de vida. Antiguamente esta enfermedad se clasificaba según su gravedad en:

- 1) *Anemia congénita del recién nacido*, en la cual la palidez y la ictericia son evidentes en la primera semana de vida; representa la forma leve de la enfermedad.
- 2) *Icterus gravis neonatorum*, cuando el recién nacido se encuentra gravemente afectado, presentando una anemia e ictericia progresivas.
- 3) *Hidrops fetalis* (edema universal o edema generalizado del recién nacido), estado en el que el recién nacido muerto presenta frecuentemente un edema muy intenso.

Menos en el caso del *hidrops fetalis*, el término de eritrobastosis subclasificado según el grado de intensidad, ha reemplazado la terminología propuesta para las dos primeras categorías. Estas representan los puntos extremos de una ostensible oscilación de los dos rasgos más sobresalientes de esta enfermedad, es decir, la ictericia y la anemia.

El recién nacido hidrópico, si bien generalmente es prematuro y nace muerto, otras veces nace vivo, pero muy rara vez sobrevive más de una semana. El edema masivo se atribuye a una insuficiencia cardíaca y a un edema pulmonar. La excreción placentaria de pigmentos biliares a través del útero explica la falta de ictericia en estos recién nacidos. Un

ligero edema no es necesariamente mortal, puesto que es posible la supervivencia mediante un tratamiento activo.

La ictericia de la piel y escleróticas que se presenta en los recién nacidos afectados de eritroblastosis, casi nunca se observa al nacer, sino que aparece en el curso de las primeras horas de vida. Si bien la intensidad del proceso hemolítico no puede predecirse con exactitud mediante el examen del líquido amniótico, este último aparece de color amarillo pálido o amarillo oscuro; la vérnix caseosa es normal o intensamente ictérica. En este último caso, la piel subyacente a la vérnix coloreada no es generalmente ictérica. En el recién nacido gravemente anémico que presenta insuficiencia cardíaca congestiva, el edema se desarrolla como complicación de lo anterior.

DESCUBRIMIENTO DE LA ICTERICIA PRECOZ DEL RECIEN NACIDO.

En los diversos trabajos de investigación que se revisaron para este trabajo, recomiendan que se determine la existencia de ictericia en los recién nacidos afectados de eritroblastosis, no originada por incompatibilidad Rh. Generalmente la ictericia no se hace aparente en el recién nacido hasta que los niveles hemáticos de bilirrubina alcanzan valores de 4 a 6mg/100cmc^(Catalán,1996; De Palma,1995). La falta de ictericia con niveles más bajos puede deberse a diferencias entre la permeabilidad capilar del recién nacido o bien a una menor afinidad del pigmento para depositarse en la piel de los recién nacidos. Se ha sugerido como medida preventiva la estrecha vigilancia de todos los recién nacidos durante los dos primeros días de la vida. Esta medida debe ser puesta en práctica incluso en los casos en que no se espere la aparición de ictericia^(Clóvis,1992). Allen, a fin de descubrir con mayor facilidad la ictericia, aconsejó el uso de luz artificial especial, así como el empleo de una pieza pulida de Lucita para blanquear la piel.

KERNICTERUS.

La lesión cerebral (*kernicterus*) representa la complicación más seria de la eritroblastosis; se asocia en general con alta concentración de bilirrubina indirecta debida a cualquier causa y se presenta en las dos primeras semanas de vida. Es posible calcular la cantidad potencial de bilirrubina que puede presentarse en cada caso de eritroblastosis. Cada gramo de hemoglobina constituye una fuente potencial de 35mg de bilirrubina. Para un niño de 3kg de peso un descenso de hemoglobina de 1g/100cmc de sangre representa una destrucción de 3g de hemoglobina y la formación de 105mg de bilirrubina. Por ello, un recién nacido cuyo sistema enzimático del hígado es inmaduro, puede acumular cantidades tóxicas de bilirrubina sin que existan pruebas evidentes de anemia intensa^(Maisels, 1995).

La toxicidad *in vivo* de la bilirrubina, ha sido atribuída a un bloqueo de la fosforilación oxidativa. La bilirrubina puede, a partir de ciertas concentraciones, inhibir casi completamente la fosforilación actuando sobre el sistema respiratorio, como ha podido demostrarse en las mitocondrias aisladas del hígado de rata. Al aumentar la bilirrubina indirecta se bloquea la fosforilización oxidativa que conduce a la lesión y muerte de las células nerviosas. Puesto que el curso y la gravedad del *kernicterus* varía de un enfermo a otro, en su formación deben hallarse involucrados más de un factor. Así, en algunos recién nacidos, se desarrolla a un nivel relativamente bajo de bilirrubina, en tanto que en otros niveles más altos no producen lesión cerebral^(Gartner, 1987).

Maisels y Neuman llegan a la conclusión en 1997 que el desarrollo incompleto de la barrera hematoencefálica contribuye al desarrollo de *kernicterus*, barrera que se localizada en los capilares del sistema nervioso central y está dotada de una permeabilidad selectiva. La permeabilidad de esta barrera, que se ha estudiado mediante el uso de colorantes de anilina, toxinas, anticuerpos víricos y medicamentos, se ha visto que es mayor en los recién nacidos prematuros que en los a término. Todas estas observaciones pueden explicarnos la susceptibilidad de los recién nacidos en general y de los prematuros en particular, a los efectos tóxicos de la bilirrubina. Se ha demostrado también que el ciclo del

fósforo es más rápido en el animal joven y en el feto que en el adulto. Cuando el animal tiene ya algunas semanas de edad, la impermeabilidad de la barrera hematoencefálica aumenta gradualmente recobrando su función protectora.

El hecho de que la bilirrubina indirecta atraviese la barrera hematoencefálica lo confirma su presencia en el líquido cefalorraquídeo en los cuatro primeros días de vida; la cantidad presente dependerá del grado de hiperbilirrubinemia. No obstante, la concentración de bilirrubina en el líquido cefalorraquídeo es siempre una fracción de la cantidad existente en la sangre.

El *kernicterus* puede pues, considerarse como una encefalopatía. Se debe sospechar de una complicación cerebral si un recién nacido al cabo de 36 o más horas después del nacimiento, se sume en estado letárgico, manifiesta inapetencia, presenta espasmos musculares o un llanto agudo e intenso. La alteración del reflejo de Moro, un trastorno en la respuesta al agitar la cuna o al emitir un ruido fuerte, son signos de gran importancia en el recién nacido afectado de eritroblatosis. El opistotono y el fallo respiratorio sólo aparecen en casos graves y mortales. Deben buscarse signos debidos a complicaciones del sistema nervioso en recién nacidos a término gravemente afectados y en los cuales la ictericia alcanza valores elevados a las 36 horas; así mismo, debe indagarse su existencia en recién nacidos prematuros, en los cuales, la ictericia alcanza niveles altos al quinto o sexto día (Maisels, 1995).

Se considera al *kernicterus* como una complicación posnatal que puede prevenirse enteramente. Si bien existen variaciones en cuanto a la susceptibilidad, se ha demostrado la posibilidad de que se presente *kernicterus* cuando las concentraciones de bilirrubina indirecta alcanzan los 20mg/100cmc. Los signos indicativos de lesión neurológica aparecen a partir de las 36 horas después del nacimiento.

Una constante atención dirigida a mantener la concentración de bilirrubina a niveles inferiores de 20mg/100cmc (mediante una o varias exanguinotransfusiones), ha resultado en

la reducción de la incidencia de *kernícterus*. Puesto que la presentación de esta complicación se haya en relación directa con la intensidad de la bilirrubina, es de gran importancia vigilar estrechamente a los recién nacidos que al nacer están ya clínicamente afectados y cuya sangre del cordón umbilical muestra valores altos de bilirrubina y un bajo contenido hemoglobínico. Todo ello es de gran importancia en los prematuros y en los recién nacidos varones, puesto que se ha demostrado que éstos son especialmente susceptibles.

Se ha descrito la existencia de una tinción ictérica de los ganglios basales, no asociada a isoimmunización, en recién nacidos prematuros afectados de esferocitosis hereditaria, ictericia congénita familiar no hemolítica, en recién nacidos a quienes se han administrado grandes dosis de vitamina K, en recién nacidos prematuros que han tomado sulfisoxazol (Gamtrisin) en los primeros 5 días de vida, así como en recién nacidos con ictericia fisiológica intensa. El uso de sulfamidas y salicatos en el recién nacido con hiperbilirrubinemia puede ser peligroso debido a su unión con las proteínas plasmáticas, permitiendo con ello la difusión de la bilirrubina a otros compartimentos del organismo.

La lesión que se produce en los recién nacidos que desarrollan *kernícterus* es debida a que la bilirrubina penetra en las células nerviosas. Por ello la bilirrubina de los tejidos es de mayor importancia patogénica que la bilirrubina sérica. No siempre se observa una relación entre la bilirrubina sérica y la bilirrubina hística. Existen algunas razones que explican estas variaciones. Puesto que la bilirrubina indirecta en el plasma existe asociada a la albúmina, un nivel de albúmina sérica reducido se asociará con un valor reducido de bilirrubina sérica, a pesar de la existencia de una gran concentración de bilirrubina sérica menor de la que se esperarfa considerando el grado de bilirrubina hística, Por ello los recién nacidos sometidos a un tratamiento con Gantrisin pueden desarrollar *kernícterus* con valores bajos de bilirrubina sérica.

Los hematíes de recién nacidos prematuros pueden ser susceptibles a hemólisis con el consiguiente desarrollo de ictericia; debe evitarse, por tanto, el tratamiento con dosis excesivas de vitamina K y sulfamidas, a menos que exista una necesidad muy concreta.

Aproximadamente del 5% al 15% de los recién nacidos vivos afectados de eritroblastosis desarrollan *kernicterus* si no son tratados. Cerca del 70% de los recién nacidos con *kernicterus* fallecen en el curso de los primeros 7 días. Mientras que el 30% que sobrevive la fase aguda presenta secuelas neurológicas en un periodo posterior, constituyendo el 10% de todos los casos de parálisis cerebral. Por ello es de esperar un desenlace fatal cuando los signos de complicación cerebral se desarrollan en el segundo día, siendo más común la supervivencia si las manifestaciones clínicas aparecen en el quinto día. Los signos de lesión cerebral que se presentan consisten en espasticidad leve o grave, atetosis, trastornos auditivos y alteraciones de los movimientos oculares.

Los niños que se recuperan de la enfermedad hemolítica pueden presentar una pigmentación verde de los dientes de leche. Se ha observado una hipoplasia aguda del esmalte de los dientes de leche en enfermos afectados de *kernicterus* subsiguiente a eritroblastosis.

ANATOMIA PATOLOGICA.

Las alteraciones anatomopatológicas que se observan en la eritroblastosis son reflejo de:

- 1) la duración e intensidad de la destrucción de los hematíes por anticuerpos maternos en el útero y en los primeros días de vida,
- 2) la hematopoyesis compensadora
- 3) la acción de factores de distinta índole que actúan sobre la función y estructura de los tejidos y órganos inmaduros ^(Gravenhorst, 1994).

En los recién nacidos que presentan una ictericia intensa puede aparecer pigmentada toda la masa encefálica. En los recién nacidos con *kernicterus* existe una mayor intensidad de coloración con un acentuado brillo amarillento en los núcleos basales y en otros situados en el tronco cerebral y en la médula. Las células ganglionadas degeneran y desaparecen dejando espacios vacíos. Se desconoce aún el mecanismo que origina estos cambios, pero el exceso de bilirrubina ejerce sobre la captación de oxígeno en el interior de las células^(Gravenhorst, 1994).

El hígado y el bazo están invariablemente aumentados. El rasgo histológico más sobresaliente es la existencia de una gran hematopoyesis extramedular en estos dos órganos y en otros tales como el páncreas, los riñones, las suprarrenales, los ganglios linfáticos, el timo y la placenta. Este regreso al tipo embrionario de formación hemática se debe a la persistente destrucción de los hematíes. La médula ósea muestra una hematopoyesis activa con un dominio de los elementos inmaduros de la serie roja. Es particularmente notable un incremento de los eritroblastos dentro de los sinusoides hepáticos que comprimen y desplazan las células del parénquima hepático, resultando en profundos cambios degenerativos. Muchas células hepáticas son vacuoladas y en algunos casos están reemplazadas por un retículo denso. El hígado lesionado muestra, en algunos casos, signos de obstrucción biliar interhepática con la existencia de grandes masas de contenido biliar en los pequeños conductos y canalículos biliares. Puede presentarse hemosiderosis en el hígado y en el bazo. Es llamativa la hipertrofia e hiperplasia de las células de los islotes pancreáticos. Puede observarse también petequias, e incluso hemorragias francas, en los pulmones. Las suprarrenales muestran una degeneración grasa en la mayoría de las células corticales^(Gravenhorst, 1994).

Puede existir edema localizado, o bien grave y generalizado como sucede en los recién nacidos afectados de *hidrops*. En este estado, son hallazgos constantes un edema intenso (especialmente en la cara), maceración en distinto grado de varios órganos, efusiones de las cavidades serosas, un gran aumento del bazo, y en menor intensidad del hígado. En los casos de *hidrops*, la placenta está edematosa, es muy voluminosa y friable.

La presencia de eritroblastos en los capilares pulmonares es el signo de mayor valor diagnóstico que se puede hallar en un feto macerado^(Gravenhorst, 1994).

ANÁLISIS PRENATAL.

ANTICUERPOS MATERNOS.

En todas las mujeres embarazadas se debe estudiar el grupo sanguíneo y el factor Rh. Si la madre resultara con un factor Rh, inmunizada o no, se debe realizar un estudio prenatal de los anticuerpos durante la primera visita o el primer trimestre del embarazo, este análisis debe repetirse a las 28 o 30 semanas. Si no se descubre inmunización, los análisis deben repetirse a intervalos de cuatro semanas hasta el final del embarazo. Si se demuestra la existencia de anticuerpos, la frecuencia de los análisis debe aumentarse, practicándose a intervalos de una o dos semanas^(Gravenhorst, 1994).

Si los anticuerpos se desarrollan por primera vez, generalmente no se descubren hasta el cuarto mes del embarazo y se incrementan a medida que éste progresa. La existencia de anticuerpos puede demostrarse casi invariablemente a las 35 semanas, no obstante, a veces se desarrolla en fases más tardías y en este caso, pueden también ser causa de una afectación fetal grave, aunque ello ocurre en casos excepcionales. La ausencia de anticuerpos en el suero materno al término del embarazo indica que el recién nacido no estará afectado de eritroblastosis debida al factor Rh. Por otra parte, si los anticuerpos se encuentran presentes al inicio del embarazo, aunque sea a débil concentración, debe esperarse el nacimiento de un niño eritroblástico^(Gravenhorst, 1994).

**TITULO MATERNO DE ANTICUERPOS ANTI-Rh.*

En los recién nacidos afectados de esta enfermedad existe una correlación, aunque no muy estrecha, entre el tipo y la concentración de anticuerpos con la gravedad de los síntomas clínicos. En general, la enfermedad tiende a ser benigna cuando los anticuerpos anti-Rh predominantes se aglutinan en medio salino. Lo contrario sucede cuando los anticuerpos son del tipo inmune o también de los llamados incompletos.

Un título muy elevado de anticuerpos incompletos indica la existencia de una enfermedad grave y de mal pronóstico (1:32, 1:64 o más alto). Se han descrito

excepciones, observándose casos graves y mortales con títulos bajos y, por el contrario, eritroblastosis que cursaban con síntomas leves en recién nacidos de madres con un título alto.

Debido al peligro de *kernicterus* se ha considerado que un título elevado de anticuerpos maternos anti-Rh (1:64 o más) constituye una indicación suficiente para practicar una exanguinotransfusión inmediatamente después del nacimiento, sin tener en consideración los hallazgos físicos o el nivel de hemoglobina existente.

Un título creciente de anticuerpos anti-Rh en un primer embarazo inmunizado indica que el feto es Rh positivo. El título de anticuerpos en los embarazos subsiguientes no puede interpretarse con el mismo grado de confianza. Los anticuerpos formados a partir de la inmunización con un feto Rh positivo generalmente persisten durante el embarazo siguiente, incluso cuando el recién nacido es Rh negativo (padre heterocigoto) habiéndose afirmado que, en estos casos, su título verdaderamente aumenta. Weiner y colaboradores se han opuesto a esta hipótesis. Para estos autores un embarazo con un feto Rh negativo y el nacimiento de un niño Rh negativo no ejerce ninguna acción sobre el título de anticuerpos Rh de una mujer Rh negativa sensibilizada al factor Rh.

En general puede afirmarse que si un padre es heterocigoto y el título de anticuerpos de una madre previamente inmunizada es bajo y permanece constante, las posibilidades de que el recién nacido sea Rh negativo son muy grandes

Existe gran disparidad de opiniones respecto al papel desempeñado por el título de anticuerpos de una madre sensibilizada después del parto. En general el título de anticuerpos después decrece algo o bien se mantiene constante durante un período prolongado de tiempo.

**INMUNIZACION CUANDO LA MADRE Y EL HIJO SON Rh POSITIVOS.*

A veces no existe una clara incompatibilidad entre la madre y el recién nacido, ya que ambos son Rh positivos. Sin embargo la presencia de hemólisis neonatal y de una prueba de Coombs positiva nos indica la presencia de sensibilización. Ante la ausencia de incompatibilidad ABO deben tenerse en consideración una posible inmunización con los factores hr'(c), rh'(E), Kell y otros menos frecuentes. En tales casos debe examinarse la sangre del padre, sin tener en cuenta su reacción al factor Rh (D), puesto que cabe que sus hematíes posean un grupo sanguíneo menor que no existe en la madre.

**TIPOS DE ANTICUERPOS.*

Los anticuerpos pueden reaccionar bajo condiciones físicas distintas. Algunos aglutinan los hematíes suspendidos en soluciones salinas, en tanto que otros únicamente los recubren. Ambos tipos de anticuerpos se encuentran en la sangre de madres sensibilizadas. Pero estos anticuerpos no atraviesan la placenta y por ello no se involucran en la etiología de la eritroblastosis. El segundo tipo no aglutina los hematíes Rh positivos cuando éstos se encuentran suspendidos en solución salina, pero sí los aglutina en un medio coloidal como el plasma, el suero o la albúmina. A estos anticuerpos se les denomina indistintamente anticuerpos incompletos, univalentes, hiperinmunes, criptoaglutinoides, glutininas e inmunes. De todos estos términos los más comúnmente usados son los de anticuerpos incompletos y anticuerpos inmunes^(Brouwers, 1987; Hoffbrand, 1988).

Los anticuerpos bloqueadores están formados por aglutininas incompletas que no son capaces de aglutinar los hematíes suspendidos en solución salina o en medio coloidal. Los hematíes quedan sólo cubiertos por estos anticuerpos. El anticuerpo (globulina) que recubre los hematíes se descubre mediante el uso de suero antiglobulina humana (Coombs) el cual aglutina los hematíes sensibilizados (prueba de Coombs directa)^(Roberts).

Muchos recién nacidos Rh positivos que manifiestan enfermedad pueden aparecer como Rh negativos cuando se les determina el tipo de sangre. Esto es debido a que los

hematíes están totalmente recubiertos por los anticuerpos incompletos. La prueba más segura para determinar la presencia de hematíes bloqueados o cubiertos es la prueba de Coombs directa^(Hillman,1995).

Los anticuerpos naturales tales como las isoaglutininas antiA y antiB, que están presentes en personas del grupo sanguíneo O, los encontramos en el curso de toda la vida; su persistencia se atribuye a estímulos antigénicos no conocidos. Los anticuerpos inmunes antiRh (D) poseen importancia diagnóstica y patológica y se originan como respuesta a un estímulo determinado que se ha producido durante un embarazo o una transfusión.

**TRANSMISION DE ANTICUERPOS.*

Sólo los anticuerpos antiRh inmunes o incompletos son capaces de atravesar la placenta en el curso del primer período del embarazo. Si en el suero materno encontramos anticuerpos completos e incompletos, en el suero fetal sólo aparecen estos últimos. Si bien existen pruebas evidentes de que la leche de una madre sensibilizada puede contener anticuerpos antiRh durante tres semanas después del nacimiento, la cantidad existente después de los dos o tres primeros días es insuficiente para producir efectos nocivos en el curso de la lactancia de un recién nacido afectado de eritroblastosis. Aunque ocurre una ligera absorción de anticuerpos, ésta es insignificante. Actualmente se permite que las madres que quieran, amamenten a sus hijos sin ninguna preocupación a partir del segundo día. No está justificado el destete de recién nacidos afectados de eritroblastosis considerando sólo el contenido de anticuerpos de la leche materna^(Kabat,1996).

DETERMINACIONES INMUNOHEMATOLÓGICAS.

PRUEBA DE COOMBS. (PRUEBA ANTIGLOBULINA).

La prueba de Coombs es un método que sirve para demostrar la presencia de anticuerpos adsorbidos o unidos a los hematíes. Esta prueba se ha vuelto común desde que Coombs y colaboradores determinaron que el suero de conejos inmunizados con globulina humana aglutinaba los hematíes humanos cubiertos con anticuerpos antiRh. La experiencia ha demostrado que esta prueba es indispensable para demostrar la presencia de anticuerpos antiRh. El componente esencial del suero de Coombs es la antiglobulina. Existen dos formas distintas de la prueba de Coombs, la directa y la indirecta.

**PRUEBA DE COOMBS DIRECTA.*

La prueba directa se usa para descubrir los anticuerpos fijados *in vivo* a los hematíes de los recién nacidos. Para su realización se añade el suero antiglobulina a una suspensión de hematíes lavados previamente tres veces consecutivas con suero salino. Se centrifuga esta mezcla y a continuación se observa si se ha producido aglutinación. A fin de determinar la presencia de sensibilización en el útero, se analizan los hematíes de la sangre de cordón umbilical inmediatamente después del parto. Este análisis nos sirve de confirmación en la determinación del tipo de sangre de un recién nacido considerado como Rh negativo. Una prueba de Coombs positiva nos indica que los hematíes estaban sensibilizados y que el recién nacido es Rh positivo. El hecho de que apareciera como negativo en los análisis habituales de determinación del tipo de sangre era debido a la acción bloqueante de los anticuerpos maternos. Una prueba de Coombs positiva confirma el diagnóstico de eritroblastosis pero en sí misma no constituye una indicación para practicar una exanguinotransfusión.

La prueba de Coombs directa de la sangre del cordón umbilical de recién nacido con signos típicos de eritroblastosis fetal y que hasta el momento ha dado resultados negativos, puede convertirse en positivo después de una previa exposición de los hematíes a un suero

humano fresco. Ello sugiere la posibilidad de convertir una prueba de Coombs directa negativa en recién nacidos claramente afectados, en una prueba positiva mediante la adición de complemento momentos antes de llevar a cabo la tradicional prueba de Coombs. Estos dos pasos de la prueba de la antiglobulina directa fueron efectuados en la eritroblastosis ABO, usando suero AB como fuente del complemento. De 9 recién nacidos afectados clínicamente, 7 de ellos mostraron una reacción serológica positiva. Ninguno de los recién nacidos afectados mostraron una reacción positiva si antes no se añadía el complemento^(Mollison, 1987).

Una reacción débil en la eritroblastosis por Rh, indica la existencia de una enfermedad clínicamente leve. Esta regla no es válida para la eritroblastosis ABO.

Se obtiene una prueba de Coombs positiva no sólo en enfermos con eritroblastosis ABO y Rh, sino también en pacientes afectados de anemia hemolítica adquirida secundaria a leucemia, linfosarcoma, lupus eritematoso diseminado y púrpura trombótica trombocitopénica^(Mollison, 1987).

**PRUEBA DE COOMBS INDIRECTA.*

La prueba indirecta se usa para demostrar la existencia de anticuerpos circulantes capaces de cubrir pero no aglutinar los hematíes suspendidos en solución salina. En esta prueba se incuba *in vitro* el suero problema con los correspondientes hematíes Rh positivos procedentes de una sangre compatible con el sistema ABO. El suero antiglobulina se añade a la suspensión de hematíes incubados después de haber sido cuidadosamente lavados. Para efectuar la lectura en busca de aglutinación se procede igual que en la prueba directa. Si el suero del enfermo contiene anticuerpos antiRh incompletos o inmunes, éstos recubren los hematíes produciéndose su aglutinación al añadirse el suero de Coombs. El suero puede titularse mediante una dilución previa con suero salino. La aglutinación puede hacerse más sensible utilizando hematíes tratados con tripsina.

Actualmente existen varios sueros antiglobulina humana de uso comercial que son muy potentes. Por ello, las pruebas de Coombs falsamente negativas son debidas, más que a reactivos inadecuados, a errores técnicos. El más común consiste en no lavar suficientemente los hematíes antes de ser analizados. Otros errores se basan en una defectuosa separación de las soluciones a partir de los lavados de hematíes, así como la introducción de proteínas al colocar el dedo encima del tubo durante la agitación de la mezcla^(Mollison, 1987; Catalán, 1996).

FRECUENCIA DE LOS GRUPOS SANGUINEOS CAUSANTES DE ERITROBLASTOSIS.

Hasta estos últimos años la incompatibilidad con respecto al factor Rh (D) explicaba la mayoría de casos de eritroblastosis. No obstante, se ha observado últimamente una menor incidencia debido al hecho de que muchos padres que han tenido uno o dos hijos con eritroblastosis han limitado el número de su descendencia.

La eritroblastosis debida a la incompatibilidad A y B se ha puesto mucho más en evidencia por la mayor atención que se le ha prestado en descubrir su posible existencia. La frecuencia de eritroblastosis en que intervienen los gríos A y B se ha calculado que comprende el 1% de todos los recién nacidos, mientras que las eritroblastosis debidas al factor Rh (Rh o D) abarca sólo el 0.5%. La inmunización al grupor A es mucho más frecuente que al grupo B^(Brouwers, 1987; 1988).

Los apareamientos con incompatibilidad del factor Rh representan el 13% de todos los matrimonios. De los matrimonios incompatibles cerca del 50% de los padres Rh positivos son heterocigotos, de tal manera que sólo una mitad de su descendencia será Rh negativa y, por tanto, estará libre de la enfermedad^(Kumpel, 1995).

En una población con cerca del 15% de individuos Rh negativos, la eritroblastosis debida al factor Rh aparecerá una vez cada 150 ó 200 embarazos a término. El hecho de

que la eritroblastosis se presente sólo en 1 de cada 20 a 26 embarazos incompatibles a término indica la incapacidad de la mayoría de madres Rh negativas para producir anticuerpos antiRh. Incluso individuos Rh negativos que han recibido transfusiones de sangre Rh positiva no desarrollan anticuerpos tras una segunda transfusión ni mediante un embarazo incompatible. El porcentaje de estos individuos es aproximadamente del 10%. Se ha calculado que mediante transfusiones repetidas de pequeñas cantidades de sangre Rh positiva y que se dan de manera que resulten bastante espaciadas, más del 75% de individuos Rh negativos pueden inmunizarse. El número de casos de eritroblastosis fetal que se presenta en el segundo embarazo de madres Rh negativas depende también de la frecuencia con que la sangre fetal penetra en la circulación durante el embarazo.

Los anticuerpos antiRh (antiD), frecuentemente en combinación con antirh'(antiC) o antirh''(antiE), son causantes de la mayor parte de casos de eritroblastosis debidas al factor Rh. Dejando de lado el factor Rh y los grupos A y B que constituyen la mayoría de los casos, los factores hr'(c), rh''(E), Kell y, en menor cantidad, otros factores sanguíneos, dejando aparte todos los pertenecientes al sistema Rh y que ya han sido mencionados anteriormente, originan el resto de casos (1-2%) de eritroblastosis^(Kumpel,1995; Brouwers,1987).

La frecuencia de eritroblastosis en cualquier población es directamente proporcional a la frecuencia de individuos Rh negativos. La incidencia es menor en la población negra de los Estados Unidos que comprenden un 5% de individuos Rh negativos, siendo excepcional en China, Japón y entre los indios americanos, de cuya población sólo el 1% o menos son Rh negativos^(Kumpel,1995; Brouwers,1987).

CONSIDERACIONES SOBRE EL PRONÓSTICO Y CUADROS FAMILIARES DE GRAVEDAD.

El título de anticuerpos antiRh maternos constituye un factor primordial para establecer el pronóstico del feto en el útero. Si el título de antiRh es menor de 1:64, la posibilidad de que el recién nacido esté en buen estado al nacer es cerca del 90%.

Puede establecerse también ciertas predicciones respecto a la enfermedad en futuros embarazos. La enfermedad suele presentarse de forma benigna en el primer recién nacido afectado que en los siguientes. No obstante, se han observado excepciones a esta regla en las cuales, se presentó una eritroblastosis grave y mortal en el primer embarazo inmunizado. Estas excepciones pueden descubrirse siguiendo el desarrollo creciente de título de anticuerpos en el suero materno. Con más precisión puede afirmarse que la tendencia a presentar una gravedad creciente no es uniforme en todas las familias y que casos benignos pueden seguir a casos graves incluso si el recién nacido de uno de los casos graves había muerto antes de nacer. Cerca del 5 al 10% de los recién nacidos afectados en el primer embarazo inmunizado nacen muertos y de los que sobreviven un 40% no requieren tratamiento. Si el primer descendiente resulta sólo levemente afectado, es probable que los recién nacidos subsiguientes sean portadores de una eritroblastosis benigna, siendo relativamente baja (cerca del 2%) la posibilidad de muerte en el momento del nacimiento. Si un recién nacido, fruto de un embarazo anterior, nació muerto a causa de una incompatibilidad Rh, existe cerca del 80% de posibilidad de que el próximo recién nacido nazca muerto si el parto ocurre de modo espontáneo.

En un trabajo publicado recientemente se calculó que si una mujer ha tenido un recién nacido muerto al nacer debido a eritroblastosis, la posibilidad de que el próximo feto Rh positivo nazca muerto es del 75%; de que nazca vivo pero con anemia muy grave del 15%, y de que nazca vivo con un cuadro fácilmente tratable sólo del 10%. Si una mujer ha tenido dos hijos muertos a causa de eritroblastosis, la posibilidad de que el próximo feto Rh positivo nazca muerto es del 90%; de que nazca vivo pero con una intensa anemia del 8%, y sólo del 2% de que nazca vivo con un cuadro fácilmente tratable.

Puede obtenerse mayor exactitud en el pronóstico si se considera la gravedad con que se presentó la enfermedad en los descendientes anteriores, ya que se ha observado que a los recién nacidos gravemente afectados y a los nacidos muertos siguen recién nacidos que presentan la enfermedad en su grado medio, y a éstos los nacimientos con un mayor grado

de afectación. Por ello, una mujer que ha tenido un recién nacido muerto a causa de eritroblastosis, tiene cuatro posibilidades sobre cinco de que su próximo hijo Rh positivo nazca muerto. Basándose en estos hechos, parece razonable aconsejar la inducción prematura del parto si el padre es homocigoto.

PRUEBAS ESPECIALES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS.

PRUEBA CON HEMATIES TRATADOS CON TRIPSINA.

Los hematíes suspendidos en medio salino pueden modificarse de tal manera al ser expuestos previamente a una solución con tripsina, que se obtienen incluso lecturas directas con anticuerpos inmunes o incompletos. Esta prueba no reemplaza la prueba de Coombs indirecta, puesto que no es capaz de descubrir la presencia de anticuerpos poco comunes tales como los anticuerpos específicos para Duffy, Kell y Kidd. No obstante, esta prueba ha alcanzado gran difusión y constituye un valioso auxiliar de las pruebas dirigidas a descubrir los anticuerpos circulantes^(Brouwers, 1987).

TECNOLOGÍA DE GEL.

El sistema ABO fue el primer sistema de grupo sanguíneo humano descubierto por Landsteiner en 1900, y continúa siendo el más importante en la práctica transfusional.

El sistema ABO se define por la presencia o ausencia de los antígenos A y/o B en los hematíes y por la presencia de anticuerpos en el suero, correspondientes al antígeno o antígenos ausentes en los glóbulos rojos.

En el recién nacido estos antígenos no están completamente desarrollados y puede observarse reacciones más débiles que en adultos. Además los anticuerpos correspondientes al antígeno o antígenos ausentes en los hematíes del recién nacido no aparecen en suero hasta los 4-6 meses después del nacimiento en consecuencia, no es posible determinar el grupo sérico en recién nacidos. La determinación del Rh(D) se define por la presencia o ausencia del antígeno D en los hematíes. Los reactivos anti-A, anti-B, anti-AB y anti-D se utilizan para realizar el tipaje del grupo ABO y Rh, combinándose con

la prueba de Coombs directa que indicará si ha habido sensibilización de los hematíes del recién nacido.

El principal método se basa en la técnica de gel descrita por Y. Lapiere' para la detección de las reacciones de aglutinación de los hematíes. La aglutinación se produce al entrar en contacto los antígenos eritrocitarios con los anticuerpos correspondientes, presentes en el reactivo o en la muestra de suero o plasma.

La tarjeta de gel es un soporte de plástico constituido por 8 microtubos. Cada microtubo está formado por una columna y una cámara de dispensación. Cada columna contiene microesferas de dextranos polimerizados en medio tamponado que actúan como filtro. Los dextranos se encuentran mezclados con un reactivo que contiene anticuerpos específicos, antiglobulina humana o un tampon. Los microtubos que contienen los anticuerpos específicos incorporados a la solución de gel actúan como medios de reacción y los hematíes aglutinan en contacto con los anticuerpos. Los microtubos que contienen antiglobulina humana actúan aglutinando los hematíes sensibilizados, "*in vivo*" o "*in vitro*", con anticuerpos IgG o fracciones del complemento. Los microtubos sin anticuerpos se utilizan para controles. Durante la centrifugación, los aglutinados de hematíes son atrapados según su tamaño, en la superficie o a lo largo de la columna de gel. Los hematíes no aglutinados descienden hasta el fondo del microtubo.

En cuanto a la sensibilidad, especificidad y precisión de la técnica de gel, se han realizado las pruebas necesarias en un número representativo de muestras positivas y negativas, llegando a obtener una sensibilidad y especificidad del 100%, mientras que la repetibilidad y reproducibilidad obtenidos muestran un funcionamiento correcto de los reactivos presentes en la tarjeta de gel.

ELUCIÓN.

Puede demostrarse mediante la prueba de elución, la especificidad de los anticuerpos que alteran los hematíes de los recién nacidos afectados de eritroblastosis. Este es un método que descubre los anticuerpos desprendidos de los hematíes que los habían absorbido. La naturaleza exacta del anticuerpo problema puede descubrirse mediante el uso de una técnica de elución caliente realizada con muestras de sangre de cordón umbilical que presenten una prueba de Coombs positiva. Los anticuerpos eluidos se preparan a partir de hematíes procedentes de sangre de cordón umbilical, mediante un lavado previo de dichos hematíes en una solución amortiguadora salina fría y dejando reposar la suspensión a 56°C. Los anticuerpos eluidos se analizan mediante hemaglutinación con hematíes A o B conocidos, o bien con hematíes Rh-Hr positivos, o propios de otros sistemas. Este procedimiento es particularmente valioso en los casos de sensibilización a antígenos del sistema ABO y del Rh^(Brouwers, 1987).

DATOS DE LABORATORIO.

Los datos hematológicos a considerar en esta enfermedad son: recuento de hematíes, hemoglobina, carboxihemoglobina, reticulocitos, leucocitos, plaquetas, bilirrubinemia y amniocentesis. Dichos datos son requeridos para el protocolo que propuso en 1996 el Dr. Catalán para el seguimiento de pacientes, basado en que:

**Hematies.-* la sangre periférica muestra rasgos evidentes de la existencia de un proceso hemolítico con signos de regeneración activa. El número de hematíes, los reticulocitos y la concentración de hemoglobina dependen de la gravedad de la enfermedad y de la capacidad de la medula ósea para compensar la destrucción de los hematíes.

La concentración de hemoglobina y el recuento eritrocitario pueden ser normales, aunque en general existe al nacer una reducción moderada o intensa de estos valores. El número de hematíes oscila entre valores inferiores a 2 millones y cifras superiores a 5.5 millones/mmc. El rasgo más sobresaliente de las extensiones hemáticas es el gran número de elementos nucleados de la serie roja que se hallan presentes en todos los períodos de maduración. Este aumento de eritroblastos refleja la acelerada actividad regenerativa de la medula ósea y de otros tejidos hematopoyéticos. Los hematíes son predominantemente macrocíticos y existe una ligera anisocitosis y poiquilocitosis. En la eritroblastosis por factor Rh no se observa esferocitosis en la extensión sanguínea, al contrario de lo que sucede en la eritroblastosis debida a incompatibilidad A y B.

Si bien el número de eritroblastos en la sangre del recién nacido durante los 2 primeros días de vida no es superior a 10 eritroblastos por cada 100 leucocitos, en los recién nacidos gravemente afectados puede alcanzarse la cifra de 5 a 10 elementos de la serie roja por cada elemento de la serie blanca. En los casos leves no se presentan incrementos superiores al porcentaje normal. La eritroblastosis puede también presentarse en recién nacidos afectados de cardiopatía congénita, en prematuros, en recién nacidos de madres

diabéticas, en los que han presentado hemorragia fetal, así como en los que padecen hipoxia.

**Hemoglobina.-* los valores de hemoglobina oscilan entre 5g y 15 a 10g/cmc. Los recién nacidos con intensa anemia y con edema importante presentan cifras de hemoglobina inferiores a 10g cuando el número de hemtíes es de 3 millones, o bien inferior a esta cifra. Aunque normalmente para calcular la concentración de hemoglobina se obtiene sangre del talón, Mollison y Cutbush, creen necesario determinar el valor hemoglobínico a partir de la sangre del cordón umbilical. La cifra de hemoglobina de la sangre del cordón umbilical sirve de índice para valorar con mayor exactitud la sangre fetal y constituye una pauta de mucho más valor para el tratamiento que las altas cifras obtenidas a partir de la sangre venosa o bien los valores, aún más altos, que se obtienen mediante punción digital. Estas diferencias son debidas a un retardo en el pinzamiento del cordón umbilical, al paso de sangre placentaria a la circulación fetal y a la rápida remoción de plasma que se produce a partir de los vasos sanguíneos inmediatamente después del nacimiento. Mollison y Cutbush citan un caso en que la hemoglobina del cordón umbilical presenta un valor de 12,8g%, en tanto las muestras de sangre venosa y capilar dieron respectivamente unos valores de 15.4 y 18g. Estas discrepancias motivan con frecuencia cierta confusión a la hora de determinar la necesidad de llevar a cabo una exanguinotransfusión.

La concentración de hemoglobina fetal en la eritroblastosis es menor que lo normal, en tanto que la concentración de hemoglobina adulta es la misma que en los recién nacidos normales. En esta enfermedad no se destruyen con mayor facilidad los hematíes que contienen hemoglobina fetal; la mayor concentración relativa de hemoglobina adulta depende de una preferente regeneración de dicha hemoglobina en respuesta a la hemólisis. La mayor capacidad de sintetizar hemoglobina adulta que poseen los recién nacidos con niveles hemoglobínicos normales, parece constituir un importante mecanismo que sirve para prevenir la insaturación de la anemia.

**Valores de carboxihemoglobina.-* el monóxido de carbono, es un producto metabólico normal, procedente de la destrucción de la hemoglobina, y presenta cifras elevadas en los recién nacidos afectados de incompatibilidad Rh. Los recién nacidos a término normales muestran una concentración de carboxihemoglobina de 0.42%. Los recién nacidos afectados de incompatibilidad Rh presentan elevaciones que oscilan entre 2.6 y 11.9%. La elevación de la carboxihemoglobina es proporcional a la intensidad de la anemia, pero no tiene ninguna relación con la concentración de la bilirrubina sérica. Los recién nacidos con incompatibilidad ABO muestran únicamente ligeras elevaciones. Los recién nacidos con hiperbilirrubinemia, pero sin anemia y sin incompatibilidad de grupo sanguíneo, presentan valores de carboxihemoglobina que se hallan dentro de los límites normales.

**Reticulocitos.-* la cifra de reticulocitos es del 6% (límite superior normal) en el recién nacido que presenta una forma leve de eritroblastosis y alcanza del 40 al 50% en los gravemente afectados. El recuento reticulocitario puede hallarse incrementado cuando la hemoglobina de la sangre del cordón umbilical es normal; este hecho indica la gran capacidad que tiene el tejido hematopoyético para compensar adecuadamente el aumento de las necesidades debido a la hemólisis. Por tanto, un valor hemoglobínico normal puede ser engañoso y, por otra parte, es útil practicar recuentos seriados de los reticulocitos, puesto que tienen gran valor como índice de la destrucción hemática subyacente. Un recién nacido que en los dos primeros días de vida tiene un valor hemoglobínico normal y un elevado recuento reticulocitario puede hallarse en una situación precaria y presentar al tercer día un rápido descenso de la hemoglobina, desarrollándose un cuadro clínico grave que precisa urgente tratamiento. Por consiguiente, los reticulocitos son de gran valor, al indicarnos la existencia de un proceso regenerativo, puesto que si los elementos nucleados de la serie roja se hallan dentro de límites normales los reticulocitos frecuentemente se hallan en número incrementado.

**Leucocitos.-* en los recién nacidos afectados de eritroblastosis grave los leucocitos varían de 15,000 a 30,000/mmc. Se han descrito aún valores más altos, pero en éstos se incluía gran cantidad de elementos nucleados de la serie roja. Se observan frecuentemente

mielocitos. Algunas veces en las extensiones sanguíneas pueden verse eritrocitos que son fagocitados por monocitos o por neutrófilos.

**Plaquetas.-* en los recién nacidos afectados de eritroblastosis grave el recuento de plaquetas puede ser normal o aparecer ligeramente disminuido. La trombopenia en ocasiones es lo suficientemente intensa como para originar petequias y púrpura. Generalmente la intensidad de la trombocitopenia es paralela al grado del proceso hemolítico.

Desforges y O'Connell en 2004 observaron un descenso de los valores de plaquetas algunos días después de ser practicada una exanguinotransfusión (a valores de 50,000 y aún menores en algunos casos) y un aumento gradual a partir del tercer día que conduce a una restauración de los valores normales al cabo de una semana. A pesar de estas cifras tan bajas no se presentó diátesis hemorrágica. Si persiste la trombocitopenia acompañada de hemorragia después del tercer o cuarto día de la exanguinotransfusión, deben buscarse otros factores causantes. En tales circunstancias debe tenerse en cuenta la posible existencia de una infección pirógena o bien de una púrpura trombocitopénica congénita asociada a un déficit de megacariocitos.

**Bilirrubinemia.-* si la bilirrubinemia se mantiene por de bajo de 20mg/100cmc puede prevenirse el kernícterus en casi todos los casos de eritroblastosis; por ello es indispensable llevar a cabo determinaciones de bilirrubina a partir del nacimiento y repetirlos con frecuencia durante los 4 o 5 primeros días de vida. Actualmente se dispone de micrométodos que requieren una pequeña cantidad de sangre. Se ha descrito también otra técnica, en la que se mide espectroscópicamente los pigmentos plasmáticos derivados del grupo hemo. Este método sirve también de guía en los casos en que sea necesario practicar una o varias exanguinotransfusiones. No obstante, las determinaciones clásicas de bilirubina tienen una mayor difusión.

Se debe vigilar cuidadosamente los métodos de laboratorio empleados para determinar las concentraciones de bilirrubina. Al comparar la incidencia de hiperbilirrubinemia en los recién nacidos prematuros de dos hospitales distintos, se observó que en uno de ellos 44 de 160 prematuros necesitaron exanguinotransfusión, en tanto en el otro hospital, de 156 recién nacidos prematuros, sólo 4 de ellos requirieron exanguinotransfusión. En 2004, Lucey y colaboradores hallaron que esta diferencia no podía explicarse por ninguno de los factores conocidos que intervienen en la producción de la hiperbilirrubinemia neonatal. Tras una detallada investigación se descubrió que la diferencia en la incidencia de la hiperbilirrubinemia se debía al método empleado en la preparación de la bilirrubina y de la curva estándar. La corrección de esta discrepancia y el subsiguiente control condujo a una disminución de la incidencia de hiperbilirrubinemia en el hospital que había presentado un porcentaje más alto.

La bilirrubina de la sangre del cordón umbilical en la mayoría de los recién nacidos normales es menor de 3mg/100cmc. En los recién nacidos a término el promedio es de 2.2mg en el segundo día de vida, en tanto que en los prematuros desciende espontáneamente entre el segundo y el tercer día de vida; en los recién nacidos prematuros con eritroblastosis este descenso se inicia en el cuarto o quinto día de la vida y se produce de forma más gradual, no alcanzándose las cifras originales que estaban presentes en la sangre del cordón umbilical hasta el décimo día o aún más tarde.

Los valores normales sirven de base para interpretar mejor las fluctuaciones que ocurren en el recién nacido afectado de eritroblastosis. La cifra de bilirrubina del cordón umbilical que se presenta en el recién nacido afectado, y que es de 3.5mg o más, no es muy superior al que se encuentra en los recién nacidos normales. Esto es debido a que en el útero este pigmento es depurado del plasma, probablemente por la placenta. Para el tratamiento de la eritroblastosis es importante conocer el ritmo de elevación de la bilirrubina que se obtiene mediante valoraciones periódicas (elevación que oscila entre 0.3 y 1mg). La gravedad de la enfermedad dependerá del incremento de la misma. Las elevaciones más rápidas se observan en las enfermedades avanzadas. En algunos casos el

aumento es gradual durante los dos primeros días, siendo más intenso en el curso del tercer y cuarto día de vida.

**Amniocentesis.-* en estos últimos años se ha puesto en práctica el examen del líquido amniótico obtenido mediante punción a través de la pared abdominal, puesto que proporciona datos valiosos para predecir la gravedad de la eritroblastosis fetal. Este método ha resultado ser muy útil para controlar el grado de afectación fetal en mujeres que habían tenido un hijo que necesitaba tratamiento, y que durante el embarazo actual mostraban un importante aumento del título de anticuerpos de al menos 1:32. En el primer embarazo de una enferma inmunizada, el título seriado de antiRh (antiD) sirve de índice para conocer el estado fetal. Pero en los embarazos subsecuentes o en aquellos en los cuales la inmunización es debida a una transfusión previa, el título de anticuerpos ya no es útil como indicador del curso del embarazo, cobrando entonces más valor la amniocentesis. Se ha descrito el caso de madres previamente sensibilizadas al factor Rh que durante el embarazo presentaban aumento considerable del título de anticuerpos y que daban a luz a niños Rh negativos. El problema también se complica en el caso de que el padre sea un probable heterocigoto. Hay que tener en cuenta que algunas veces el título de anticuerpos aumenta, y se comprueba en el parto la presencia de un recién nacido Rh positivo pero sin ningún signo de eritroblastosis, y que por otra parte ha sido expuesto al peligro de la prematuridad. Posiblemente el examen del líquido amniótico puede prevenir la práctica de cesáreas innecesarias y conducirnos a una valoración más realista de la eritroblastosis y de su curso dentro del útero. La reciente introducción de la transfusión al feto dentro del útero con la esperanza de conseguir ganar algunas semanas de gestación ha incrementado el interés que se había concedido a la amniocentesis.

La punción transabdominal se realiza en la línea media, en la región que corresponde a los pies o las nalgas del feto. Para reducir el riesgo de provocar heridas fetales puede localizarse la situación de la placenta recurriendo a la albúmina radiactiva o bien a hematíes cromados. El líquido amniótico se desecha si sale teñido de sangre; las muestras obtenidas en buenas condiciones se centrifugan, se filtran y se analizan. Algunos

autores, refieren que la primera aspiración de líquido amniótico, debe realizarse a las 32 semanas, y la repiten, si es necesario, a intervalos de una o dos semanas. Otros autores, llevan a cabo dos exámenes de líquido amniótico entre las semanas 28 y 32. El resultado del segundo examen se compara con el del primero, el cual por su parte se valora en relación con el título de anticuerpos y la historia clínica. Cuando se considera que el feto se halla en verdadero peligro, se lleva a cabo la amniocentesis a las 24 o 27 semanas; si se practica con una técnica adecuada, el feto gravemente afectado puede beneficiarse de una transfusión intrauterina de concentrado de hematíes administrada por vía intraperitoneal.

La bilirrubina que aparece en el líquido amniótico es principalmente del tipo indirecto. En general pueden determinarse por métodos espectroscópicos todos los pigmentos derivados de la degradación de la hemoglobina, incluyendo en éstos a la bilirrubina. La densidad óptica se mide en longitudes de onda, obteniéndose un registro continuo cuando las muestras a estudiar oscilan espectroscópicamente de 800 a 300nm. Los pigmentos biliares procedentes de la degradación de la hemoglobina absorben entre 400 y 500nm presentado un máximo a los 450nm si las cantidades de pigmento son muy importantes. Cuanto más pronunciado sea este máximo, más afectado se encontrará el feto. Y cuanto más pronto aparezca el pigmento tanto peor será el pronóstico.

Generalmente se induce el parto a las 37 semanas si se produce un rápido aumento en el título de anticuerpos (1:64), en especial si con anterioridad han habido recién nacidos afectados de eritroblastosis. Por otra parte y basándose en la amniocentesis se han realizado inducciones del parto con recién nacidos viables a las 32 semanas.

Si bien la mayoría de los autores consideran que la amniocentesis es un procedimiento relativamente seguro, se ha llamado la atención sobre la posibilidad de que algunos hematíes fetales penetren en la circulación materna si durante dicha técnica se hiere la placenta. Una hemorragia fetal no sólo puede comprometer la vida del feto, sino también desencadenar un aumento del título materno de anticuerpos. Por otra parte en la revisión de varios artículos que reportan diferentes casos, no se encontró una prueba segura de que la

amniocentesis produjera un aumento del título de anticuerpos maternos o bien aumentara la gravedad del proceso hemolítico en el embarazo en curso o en los subsecuentes. En este contexto, no se puede afirmar todavía que el título de anticuerpos se afecte por la aminocentesis o que la lesión placentaria suponga algún efecto sobre embarazos posteriores. Por ello, es necesario una mayor experiencia para poder calibrar con exactitud los riesgos y beneficios que este procedimiento lleva aparejados. Existen peligros potenciales en la amniocentesis, en la inducción prematura del parto, así como en la prematuridad del recién nacido después del parto. El objetivo principal es, desde luego, disminuir el número de recién nacidos muertos así como, mediante la inducción prematura, lograr que el número de muertes durante el período neonatal sea menor. Si bien la amniocentesis no puede ser nunca un procedimiento de aplicación sistemática, es un medio muy importante para poder fijar la gravedad de la eritroblastosis fetal en aquellos casos en los cuales la vida fetal se halla en peligro.

Bowman y Pollock en 2002, afirman que el examen del líquido amniótico y la espectrofotometría alcanzan, en todos los embarazos isoimmunizados estudiados, una exactitud en la predicción de la gravedad de la enfermedad intrauterina de cerca del 96.8% (estudio realizado en 252 embarazos Rh negativos inmunizados). La exactitud pronóstica en el período anterior al examen de líquido amniótico era del 62%. El hecho de poder predecir el grado de enfermedad en el útero nos proporciona un índice sobre la conveniencia de inducir el parto a las 32 semanas de gestación o bien nos señala la necesidad de prolongarlo más tiempo. En su trabajo atribuyen la supervivencia de 54 recién nacidos al parto inducido. Estos autores recomiendan la práctica de la amniosentesis inicial entre la semana 30 y 32 de la gestación, e incluso entre la 22 y 23 si existe peligro inminente de muerte intrauterina. Recomiendan la aminocentesis en:

- 1) todos los embarazos isoimmunizados con una historia previa de enfermedad lo suficientemente grave para necesitar tratamiento o ser causa de muerte al nacer, sin tener en consideración el título de anticuerpos;
- 2) todos los embarazos isoimmunizados con una historia previa de muerte al nacer de causa desconocida;

- 3) todos los embarazos sensibilizados por primera vez y cuyo título de anticuerpos en medio albuminoso sea superior a 8 a las 32 semanas de la gestación, y
- 4) en el segundo y subsecuentes embarazos isoinmunizados que ocurren tras el nacimiento de un recién nacido cuyo título en medio albuminoso sea superior a 8.

Bowman y Pollock señalan que las muestras de líquido amniótico deben protegerse de la luz (especialmente la luz solar y en menor grado la luz artificial) puesto que decolora rápidamente la bilirrubina y los pigmentos semejantes. La contaminación del líquido amniótico con sangre puede también producir falsas elevaciones a valores de 450nm. Estos autores creen que este método no representa peligro para la madre, pero si se atraviesa la placenta puede aumentar el título de anticuerpos, incrementando la gravedad de la enfermedad en el feto. Dichos autores afirman que este procedimiento ha sido de gran valor al llamar la atención sobre los fetos gravemente afectados, que su supervivencia sólo era posible mediante transfusiones fetales efectuadas por vía intraperitoneal.

CAPITULO II. PROPUESTA.

El hecho de haber realizado una revisión minuciosa de los temas relacionados con la EHPN es por la importancia que debe mantenerse en el seguimiento en cuanto al manejo de la madre sensibilizada y el recién nacido ya que el diagnóstico de esta enfermedad puede efectuarse precozmente, incluso antes del nacimiento, para de esta manera poder decidir y aplicar la profilaxis y el tratamiento adecuado según sea el caso, además de actuar con rapidez y precisar los anticuerpos involucrados, para de esta forma disminuir su incidencia y morbilidad.

El interés de esta revisión es correlacionar todos los factores involucrados en este padecimiento, para identificar y diferenciar oportunamente una EHPN por Rh de una por ABO. Lo anterior para crear una estrecha comunicación y colaboración entre los profesionales de la salud (Ginecólogos, Pediatras, Neonatólogos, Perinatólogos, Genetistas, Hematólogos, Inmunólogos, Químicos, etc) y los pacientes afectados, procurando un compromiso más sólido por parte de las instituciones de salud en cuanto a los principios básicos que deben considerarse para el análisis y la prevención de esta enfermedad.

Con la finalidad de poder implementar una guía o un protocolo a seguir de manera sencilla y práctica tanto para los profesionales de la salud como para los pacientes afectados para el diagnóstico, profilaxis y tratamiento de esta enfermedad, podemos considerar en base a los temas discutidos en el capítulo anterior el establecer dos tipos de diagnósticos: el prenatal y el posnatal; así como la elaboración de una historia clínica que aporte información amplia y precisa de cada caso. Esto con el fin de establecer las condiciones en que se comienza a tratar a cada paciente (padres e hijos), empleando un lenguaje sencillo y claro que permita a la madre y a su pareja una mejor comprensión de cada pregunta durante las entrevistas en las diferentes áreas por las que deberán atravesar (consultorio médico, laboratorio clínico, sección de estudios de gabinete, banco de sangre, etc) antes, durante y al término del embarazo, ya que son ellos quienes nos aportarán los datos iniciales que

permitirán comenzar a correlacionar los antecedentes de la madre, del padre y de sus descendientes con la evolución clínica que se valla presentando.

DIAGNÓSTICO PRENATAL.

Para seguir la evolución del caso, es importante que éste se realice lo más pronto posible. Se debe proceder a obtener:

1. Historial precedente.

- a) **Obstétrico:** historias de partos previos con recién nacidos hidrópicos, ictericia en las primeras 24 horas después del parto, así como abortos en el primer trimestre del embarazo.
- b) **Hemoterápico:** se debe obtener si la gestante ha sido transfundida con anterioridad y si se conocía su condición de Rh negativo (si lo fuera), así como si presentó reacción a la transfusión.

2. Evidencias de incompatibilidad sanguínea entre padres.

Investigar los sistemas ABO y Rh de los progenitores.

- a) **Sistemas ABO:** cuando la gestante es del grupo O y la pareja A o B, existen posibilidades de EHPN.
- b) **Sistema Rh:** las posibilidades son:
 - La mujer Rh negativa y pareja Rh positivo. Es la condición clásica de Levine y la causa más frecuente de EHPN por Rh.
 - La mujer es Rh positiva y pareja Rh negativo. Es la situación inversa a la anterior. Los antígenos que la provocan son el c (hr') y el e (hr'') y para que la incompatibilidad se manifieste es necesario que la mujer sea homocigota para los antígenos C o E y su pareja posea c ó e. La relación entre los casos debidos al antígeno D y los debidos al c era 74:1, pero después de la profilaxis anti-Rh, paso a 10:1.
 - Los padres son Rh positivos. Hay que proceder al estudio del genotipo de la pareja. Puede ocurrir que la mujer sea homocigoto para un antígeno y la

pareja posea el alelo correspondiente. Fuera del sistema Rh, la incompatibilidad se producirá en un sistema distinto, también mostrado a través del fenotipo. Generalmente están implicados los sistemas Kell, Kidd, Duffy y Diego.

- Los padres son Rh negativos. Las mismas consideraciones hechas para el caso anterior son válidas aquí.

3. Evidencias de aloinmunización.

Foerster en 1998 estableció que es fundamental para el diagnóstico. A toda gestante Rh negativa o positiva se le deben investigar los anticuerpos irregulares; inicialmente a través de pruebas de pesquisaje (prueba de antiglobulina indirecta, Coombs indirecta) y cuando el resultado sea positivo, se deberá investigar la especificidad y el título.

Cuando el título de anti-D sea inferior a 1:16 hasta el final de la gestación, hay pocas posibilidades de muerte fetal o neonatal. La EHPN será, por lo regular, leve o moderada. Pueden existir diferencias en cuanto al valor crítico del título, por lo que cada laboratorio deberá determinar el valor crítico de esta prueba, ajustándolo a sus condiciones de trabajo.

Cuando la investigación de anticuerpos irregulares significativos sea negativa, es necesario repetirla a las semanas 12, 20, 28, 32 y a los 15 días antes de la fecha probable del nacimiento. No se han definido bien los títulos críticos para anticuerpos diferentes del anti-D.

4. Evaluación de la gravedad de la EHPN.

Una vez confirmado el diagnóstico de EHPN es necesario analizar la dinámica del proceso hemolítico, para asegurar el buen desarrollo del feto y su viabilidad.

La evolución de la gravedad de la EHPN debe basarse en los datos siguientes:

- a) Historia obstétrica y hemoterapéutica:

La EHPN tiende a manifestarse como una forma clínica, íctero-anémica o hidrópica, que se agrava o no en las gestaciones siguientes. La presencia de un feto o recién nacido hidrópico en la historia de la gestante es un dato importante.

En cuanto a la historia hemoterapéutica se debe recordar que la transfusión de sangre incompatible produce una aloinmunización intensa.

b) Características del anticuerpo:

La mayoría de las formas graves están causadas por anticuerpos anti-D, aunque otros sistemas son capaces de producir la EHPN (anticuerpos anti-c,-K, -S, -s, -PP₁P^k). La titulación del anticuerpo es válida sólo en la primera gestación donde aparece el anticuerpo^(Clóvis,1992). En embarazadas inmunizadas posteriores, si el título de anticuerpos es elevado desde el comienzo, este puede aumentar más aún, disminuir o permanecer inalterado. Por esta razón, en las pacientes previamente inmunizadas, los títulos seriados de anticuerpos no son un método confiable para evaluar el estado del feto. En estos casos debe evaluarse el líquido amniótico^(Queenan,1986).

La cuantificación del anticuerpo presenta más correlación con la severidad que el título: si es < a 4-5UI/mL, el recién nacido tendrá Hb superior a 100g/L, la bilirrubina menor de 85µmol/L y solamente el 4% de ellos requieren exanguinotransfusión. Si es > a 4-5UI/mL, el 75% de ellos necesitarán una exanguinotransfusión y tendrán una Hb inferior a 100g/L^(Clóvis,1992).

c) Estudio del líquido amniótico:

Un buen índice de la hemólisis intrauterina y del bienestar fetal es el nivel de pigmento biliar en el líquido amniótico obtenido por amniocentesis^(Catalán,1996). El método de espectrofotometría, propuesto por Liley, permite determinar la concentración de bilirrubina en el líquido amniótico y por consiguiente, predice la severidad de la enfermedad sobre la base de la variación de la densidad óptica a 450nm (DO₄₅₀). El trabajo original de Liley era sobre fetos de más de 27 o 28 semanas de gestación y no debe ser extrapolado hacia atrás. También pueden estudiarse otras variables fetales como la relación lecitina/esfingomielina para medir la madurez pulmonar^(American Association of Blood Bank,1997), de gran importancia para decidir el momento del nacimiento.

d) Ultrasonografía:

Es un método no invasivo de inestimable valor, porque permite evaluar la función cardíaca y el tamaño del área cardíaca, hepática, esplénica, de la placenta y el volumen de líquido amniótico, que se incrementa con la hematopoyesis extramedular y la anemia progresiva. Le técnica puede indicar la presenica de *hidrops fetal*^(Brouwer,1988; Queenan,1986).

El ultrasonido ha reducido al 20% el riesgo de traumatismo placentario cuando se efectúa la amniocentesis, pues permite un perfil del sitio de implantación^(Sids,1986), de suma importancia si la ubicación de la placenta es anterior.

e) Extracción percutánea de sangre de cordón:

Permite establecer un diagnóstico de seguridad y gravedad, pues evalúa directamente variables hematológicas y bioquímicas del feto. Muchas veces se contamina con sangre materna o fluido amniótico; para diferenciar la sangre materna de la fetal se utilizan marcadores tales como el tamaño de los eritrocitos, la presencia de Hb fetal y la expresión de antígenos^(De Palma,1995; Steiner,1990).

f) Toma de muestra de vellosidades coriónicas^(Catalán,1996):

Se realiza bajo ultrasonografía. Puede obtenerse una muestra de vellosidades coriónicas a las 8-9 semanas de gestación; al romper las vellosidades se obtienen hematíes fetales y se puede efectuar la tipificación antigénica. La toma de muestra puede efectuarse por vía transabdominal o transcervical, bajo ultrasonografía. Esta prueba presenta riesgo de hemorragia fetomaterna, con pérdidas fetales en el 0.8% de los casos, y aumento del título de anticuerpos, por lo que debe indicarse profilaxis con gammaglobulina anti-D, si la mujer no está aloimmunizada. La indicación de esta prueba está resevada para mujeres con pareja heterocigota para el antígeno problema, severamente inmunizadas, con antecedentes de EHPN severa y muerte intrauterina.

g) Empleo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para determinar el Rh fetal^(Bowman,1988; Foerster,1998; Catalán,1996):

La técnica del PCR permite amplificar selectivamente secuencias de ADN o ARN, generando grandes cantidades de ADN de longitud y secuencias definidas a partir de pequeñas cantidades de un complejo templado.

Bannet, Arce, Rossiter y otros estudiaron células fetales de líquido amniótico y determinaron el Rh del feto^(Rossiter,1994). La determinación del antígeno D con métodos moleculares puede realizarse en vellosidades coriónicas o en el líquido amniótico. Hay reportes de intentos por desarrollar la tipificación D por análisis del DNA de células fetales de la sangre periférica de madres Rh negativas, pero este sistema no está aún disponible como método de rutina^(Le Van Kim,1994). Esta técnica no invasiva podría convertirse en el método de elección para la tipificación del Rh fetal cuando se desarrollen mejores métodos de enriquecimiento de células fetales.

h) Prueba de respuesta a la oxitocina (PRO) y determinación de los valores de estriol materno:

Pueden ser útiles. Aunque los niveles de estriol materno elevados indican la suficiencia de las vías metabólicas dependientes de una unidad fetoplacentaria funcionante, los valores en sí no son buenos indicadores de la severidad de la EHPN^(Queenan,1986).

i) Estudios de inmunidad celular^(Catalán,1996):

Los ensayos funcionales que miden la interacción entre hematíes sensibilizados y las células mononucleares humanas parecen ser útiles en predecir la evolución de la enfermedad hemolítica. Los más ampliamente conocidos son:

- Prueba de monocapa de monolitos (MM).
- Prueba de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC).

La prueba de MM predice la significación clínica de los anticuerpos en casos potenciales de enfermedad hemolítica. Serviría como prueba *in vitro* de la afinidad del anticuerpo materno por los eritrocitos fetales. Cuando la reactividad de esta prueba es mayor o igual al 20%, se asocia con EHPN que requiere transfusión^(Catalán,1996).

La prueba de ADCC puede arrojar falsos positivos, cuando existen en la madre anticuerpos bloqueadores para el receptor Fc presentes en el segundo embarazo y siguientes. Los hematíes sensibilizados *in vivo* con IgG se adhieren a los fagocitos mononucleares por medio de receptores Fc. La interacción entre el receptor y la célula blanco viene determinada por la subclase de IgG. Sólo las IgG1 e IgG3 son capaces de permitir la adhesión del hematíe a la célula efectora y de estas las IgG3 tienen mayor actividad de adherencia. Las subclases IgG2 e IgG4 no lo hacen o es muy

escasa^(Linares,1996). Se ha observado que la prueba de MM tiene similar utilidad que la prueba de ADCC^(Catalán,1996), actualmente un gran número de investigadores le confieren mayor credibilidad a la prueba de MM.

DIAGNÓSTICO POSNATAL.

Se puede efectuar:

- Clínicamente: a partir del aspecto físico del recién nacido. Se puede encontrar palidez, taquicardia y taquipnea debido a la anemia. La taquipnea puede deberse también a derrames pleurales o hipoplasia pulmonar; hepatoesplenomegalia secundaria al fallo cardiaco o debido a la hemólisis extravascular y a la hematopoyesis extramedular; Petequias y púrpuras pueden estar presentes por la trombocitopenia, íctero y además pueden constatarse signos neurológicos de la encefalopatía bilirrubínica (letargo, hipotonía). Otros signos incluyen vómitos, llanto de tono alto, fiebre, hipertonia y opistótonos^(Petere,1995).
- Inmunoematológicamente: es muy completo porque confirma el diagnóstico, evalúa la gravedad y establece la conducta a seguir^(Clóvis,1992).

Existen pruebas de confirmación y pruebas de valoración de la gravedad de la EHPN para la madre y el recién nacido.

**Pruebas de confirmación:* se emplean en la madre y en el niño. En la madre se realiza el tiraje ABO y Rh^(Clóvis,1992), que incluye prueba de determinación de variantes débiles del antígeno D(D^u) pues pacientes D^u pueden ser considerados Rh positivos y tratados como tal; Coombs indirecta^(Clóvis,1992) para determinar aloanticuerpos maternos y su especificidad; prueba de rosetas^(De Palma,1995), para determinar si hubo o no paso de hematíes fetales a la circulación materna, prueba de Kleihauer-Betke^(De Palma,1995; Le Van Kim,1994), para cuantificar la cantidad de sangre fetal en la circulación materna y la citometría de flujo^(Bromilow,1997; Bayliss,1991) para precisar si ocurrió o no hemólisis fetomaterna y cuantificarla. En el niño se realiza el tiraje ABO y Rh^(Clóvis,1992), la prueba de Coombs directa para demostrar anticuerpos sobre el hematíe, por técnica de gel; Hb y hematocrito de cordón^{(De}

Palma,1995, Peterc,1995), bilirrubina indirecta de cordón^(De Palma,1995), conteo de reticulocitos^(Peterc,1995), en la EHPN puede ser superior al 6% y tan alto como del 30 al 40%; gasometría de sangre arterial^(Peterc,1995), que puede mostrar acidosis metabólica y elusión de anticuerpos de los hematíes del recién nacido^(Mollison,1987).

**Pruebas de valoración de la gravedad^(Peterc,1995):*

- Determinación de albúmina sérica y la relación albúmina/bilirrubina.
- Determinación de carboxihemoglobina (COHb). Los niveles de COHb están aumentados en neonatos con hemólisis.

MANEJO DE LA ALOINMUNIZACIÓN.

A. SUPRESIÓN DE LA ALOINMUNIZACIÓN

Muchos han sido los intentos para suprimir la aloinmunización. Dos medidas que son beneficiosas en la reducción de los niveles de anticuerpos maternos y que disminuyen la severidad de la EHPN son:

- Plasmaféresis intensiva^(Bowman,1998; Foerster,1998).
- La administración de gammaglobulina intravenosa (IGIV)^(Bowman,1998; Foerster,1998; Margulies,1991).

Con la **plasmaféresis** los niveles de aloanticuerpos pueden disminuir hasta un 75%, pero de 6 a 8 semanas después los niveles de anticuerpos tienden a rebotar, aún con plasmaféresis continuas. El plasma extraído puede reponerse con albúmina o IGIV para reducir el efecto rebote y mantener adecuados niveles de albúmina e IgG. La plasmaféresis es un procedimiento incómodo y costoso, no exento de riesgo para la madre, por lo que debe reservarse para madres con un compañero homocigoto para el antígeno al cual ellas están inmunizadas y madres con una historia previa de *hidrops*. Esta medida debe comenzar a las 10 o 12 semanas de gestación, cuando comienza la transferencia de anticuerpos maternos^(Bowman,1998; Foerster,1998; Catalán,1996).

El uso de altas dosis de **inmunoglobulina intravenosa** y sus beneficios han sido reportados^(Catalán,1996; Margulies,1991). Los mecanismos de acción postulados son:

- a) Inmunomodular las células T y B maternas en número o en función y suprimir la síntesis de anticuerpos.
- b) Saturar los receptores Fc de la placenta.
- c) Atravesar la placenta y bloquear el sistema monolito-macrófago fetal.
- d) Existencia de un mecanismo *feedback* negativo que actúe sobre la línea celular B que produce el anticuerpo^(Gravenhorst,1994).

Los niveles de aloanticuerpos maternos circulantes pueden reducirse a la mitad, por el efecto *feedback* negativo de la IGIV y producir niveles de IgG de 25 a 30g/L, con una dosis de 2g/Kg de peso. Además la IGIV causa interferencia con el paso de anticuerpos maternos a través de la placenta, ya que satura los receptores Fc del trofoblasto y del sistema monolito-macrófago del feto, por lo que disminuye la hemólisis de las células fetales recubiertas de anticuerpos. El tratamiento con IGIV debe comenzar al mismo tiempo que la plasmaféresis. La dosis recomendada es de 400mg/Kg de peso materno durante 5 días, repetir a intervalos de 3 semanas o 1g/Kg de peso materno/día y repetir semanalmente. El inconveniente más importante para el uso rutinario de la IGIV es su elevado costo^(Catalán,1996).

B. TRATAMIENTO FETAL.

El tratamiento de la EHPN ha pasado por varias etapas. Inicialmente la inducción temprana del parto comenzó a plantearse como alternativa de tratamiento en los fetos con alto riesgo de desarrollar *hidrops fetalis* después de las 32-34 semanas de gestación. Con la introducción de nuevos métodos para el tratamiento de esta enfermedad esto ha cambiado^(Bowman,1998; Foerster,1998). Ya desde 1941, Levine y otros demostraron que los recién nacidos se beneficiaban con la administración de sangre Rh negativa; a partir de esta fecha la transfusión de sangre se convirtió en el principal tratamiento de esta enfermedad. Las técnicas para la transfusión se fueron perfeccionando. Diamond propuso la transfusión por vía umbilical, en 1947; Liley la transfusión intrauterina (TIU) por vía peritoneal; que fue mejorada a partir de 1976 por Hobbins y otros en su ejecución, con la introducción de la

ultrasonografía dinámica; y finalmente Rodeck y otros en 1981 propusieron la vía intravascular para la TIU^(Catalán,1996, Clóvis,1992).

***TRANSFUSIÓN FETAL INTRAUTERINA.**

Es el método a elegir si se hace necesario tratar al feto antes de la semana 32 de la gestación. Tiene como objetivo combatir la anemia. Están indicadas si el hematocrito fetal es menor o igual al 30% y el feto es demasiado inmaduro para el nacimiento^(Catalán,1996). La sangre a usar debe ser de menos de 96 horas de extraída (menos de 4 días), exenta de plasma y de capa leucoplaquetaria, libre de citomegalovirus (CMV) e irradiada (2,500-3,000 rads) para evitar el riesgo potencial de enfermedad de injerto contra huésped. Los hematíes a administrar deben ser preferentemente ABO compatibles, antígeno negativos para el anticuerpo problema, carentes de HbS^(American Association of Blood Bank,1997) y compatibles con el suero de la madre. Antes de la transfusión, de 10 a 12mL de solución salina estéril deben añadirse al paquete de células rojas para disminuir su viscosidad y facilitar la transfusión. El hematocrito resultante de la unidad a transfundir debe estar entre 0.85 y 0.90^(Clóvis,1992; Zipursky,1982). Las TIU pueden ser intraperitoneales o intravasculares.

- **Transfusión fetal intraperitoneal (TIP):** se introduce en 1963 por Liley y cambia el pronóstico de los fetos afectados severamente^(Clóvis,1992; Foerster,1998; Catalán,1996). En un tiempo constituyó un método de tratamiento para los niños con talasemia, y fue desplazada por la transfusión intravascular debido a sus desventajas. Se sabe que los hematíes son absorbidos en cavidad peritoneal a través de las lagunas linfáticas subdiafragmáticas y funcionan normalmente. En ausencia de *hidrops*, del 10 al 12% de las células rojas infundidas son absorbidas diariamente^(Catalán,1996). La presencia de ascitis no impide la absorción, aunque es más variable^(Foerster,1998). El aumento de Hb tarda de 8 a 10 días. El volumen a transfundir se determina a través de la siguiente fórmula^(Clóvis,1992).

$$\text{Volumen a transfundir} = (\text{No. de semanas de gestación} - 20) \times 10\text{mL}$$

- **Transfusión fetal intravascular (TIV):** los primeros en usarla fueron Rodeck y otros (1981-1984) utilizando un fetoscopio. Más tarde con el desarrollo de la ultrasonografía, este tratamiento fue introducido en varias unidades perinatales^(Clóvis,1992; Catalán,1996). Se utiliza preferentemente la vena umbilical, aunque puede ser un arteria umbilical y la placenta. Este tipo de transfusión tiene las ventajas siguientes:
 - a) Puede confirmarse el grupo fetal.
 - b) Puede medirse el hematocrito pre y postransfusional.
 - c) Los niveles de Hb aumentan inmediatamente.
 - d) Puede efectuarse con éxito antes de las 20 semanas. En Alemania, Dieter y otros efectuaron la primera transfusión intrauterina a las 18 semanas^(Grob,1999).
 - e) Puede lograrse la revisión del *hidrops fetal in útero*, y lograr el nacimiento de un niño sin *hidrops*, lo que reduce las complicaciones neonatales; además de que los fetos hidróticos han alcanzado una sobrevida del 89%^(Catalán,1996).
 - f) Los fetos pueden mantenerse *in útero* hasta las 37-38 semanas de gestación.

La sobrevida a este tipo de transfusión es superior a la de la TIP. En un estudio realizado en Canadá, se demostró que de 75 fetos que recibieron TIP, 57 sobrevivieron (76%) y que de 154 fetos que recibieron TIV, 136 sobrevivieron (88%). En este mismo estudio, de 30 fetos hidróticos que recibieron TIP, 18 sobrevivieron (60%) y de 48 fetos hidróticos que recibieron TIV, 35 sobrevivieron (73%)^(Foerster,1998).

La dosis a transfundir es de 40 a 50mL/Kg de peso fetal estimado. Si existe evidencia de bradicardia significativa o marcada dilatación ventricular, la transfusión debe ser descontinuada^(Foerster,1998).

Rodeck y otros aconsejan inyectar 2/3 de la dosis calculada y a continuación tomar una muestra para evaluar el resultado; si el hematocrito no es satisfactorio, hay que completar la administración hasta que quede el hematocrito fetal entre 0.35 y 0.45^(Clóvis,1992).

Intervalo entre las transfusiones:

- Para los fetos no hidrónicos es fija, relativamente de 9 a 12 días entre la primera y la segunda transfusión, de 15 o más entre la segunda y las restantes.
- Para los fetos hidrónicos, la TIU se puede anticipar si hay señales de agravamiento.

Complicaciones de la TIU:

- Las maternas son rarísimas. Se han descrito partos prematuros y aloimmunizaciones a otros antígenos (anti-Fk^b, anti-Jy^b, anti-S)^(Foerster,1998).
- En el feto se han descrito hematoma y hemorragia en el sitio de la punción, bradicardia fetal, corioamnionitis, quistes paraencefálicos, reacciones de injerto contra huésped, quimerismo, susceptibilidad a las infecciones y posteriormente desarrollo psicomotor comprometido^(Foerster,1998, Catalán,1996).

C. TRATAMIENTO DEL NEONATO CON EHPN.

Deben realizarse determinaciones de sangre de cordón umbilical: ABO, Rh, prueba de Coombs directa, Hb, hematocrito, bilirrubina directa y total.

**EXANGUINOTRANSFUSIÓN (ET).*

Es introducida por Wallerstein en 1945^(Foerster,1998). Se emplea en el tratamiento de la EHPN, severa pues corrige la anemia, elimina los hematíes unidos a las inmunoglobulinas, así como las inmunoglobulinas libres y reduce la carga de bilirrubina al remover los productos liberados por la hemólisis eritrocitaria^(Foerster,1998; Peterc,1995).

Generalmente se recambian entre 1 y 2 volúmenes sanguíneos del recién nacido (130-170mL/Kg de peso). Cuando se recambian 2 volúmenes de sangre se remueve cerca del 90% de los hematíes afectados, mientras que con 1 se remueve cerca del 70%. La remoción de la bilirrubina es insuficiente, porque la bilirrubina es insuficiente, porque la bilirrubina unida a la albúmina se encuentra tanto en el espacio intravascular como en el extravascular. Dos volúmenes de sangre remueven cerca de 25-30% de la bilirrubina corporal total.

La administración de albúmina (1g/Kg) antes de la ET o la adición de albúmina (4-6g) a la sangre usada para la ET, podría incrementar la cantidad de bilirrubina removida por su eliminación del espacio intravascular^(Foerster,1998). Otros autores plantean que con el recambio de 2 volúmenes sanguíneos, la bilirrubina sérica disminuye hasta un 45-50% de su valor previo^(American Association of Blood Bank,1997). Muchos autores han cuestionado el beneficio de la terapia con albúmina, por lo que no debe establecerse como norma de tratamiento de los recién nacidos con anemia, pues el incremento de la presión oncótica y del volumen sanguíneo en el recién nacido anémico puede precipitar el fallo cardíaco^(Foerster,1998; Peterc,1995).

El mayor problema de la ET en la EHPN es la selección de la sangre adecuada. Como la madre y el niño pueden pertenecer a grupos ABO distintos, normalmente se utilizan hematíes del grupo O. Si el anticuerpo problema es anti-D, los hematíes tienen que ser Rh negativos.

No obstante, no todas las ET requieren sangre O negativas. Si la madre y el niño tienen el mismo grupo ABO, pueden utilizarse hematíes isogrupo y si el anticuerpo problema no es anti-D, los hematíes administrados deben ser carentes del antígeno problema. Para realizar las pruebas de compatibilidad antes de la ET, se puede utilizar el suero o el plasma tanto de la madre como del hijo. El suero materno tiene la ventaja de su mayor disponibilidad en cuanto a volumen, mayor concentración de anticuerpos y la posibilidad de analizarse totalmente antes del nacimiento, aunque debe tenerse presente que puede contener anticuerpos frente a antígenos distintos presentes en los hematíes del niño, o anticuerpos IgM que no atraviesan la placenta. Ni el suero del niño, ni el eluido, son ideales para pruebas de compatibilidad, ya que el suero puede tener un número insuficiente de moléculas de anticuerpos y el eluido puede no contener otros anticuerpos presentes en la sangre de la madre para antígenos no presentes en los hematíes del recién nacido y sí presentes en la sangre a transfundir^(American Association of Blood Bank,1997).

Se recomienda generalmente para los recién nacidos una ET igual a 2 veces el volumen sanguíneo del paciente. Las características de la sangre a usar para la ET son las mismas que para la TIU, excepto que no es necesario irradiar los hemáties a no ser que el recién nacido haya recibido transfusión intrauterina o sea un pretérmino (PT) de menos de 1,200g de peso^(Stehling,1994). Para realizar este procedimiento, los concentrados de hemáties pueden combinarse con plasma fresco congelado, compatible con los hemáties del neonato y de los hemáties a transfundir, albúmina al 5% o administrarse sangre total (de menos de 4 días).

La ET disminuye los niveles de neutrófilos, lo cual es corregido lentamente, pero no parece tener significado clínico; similar a lo que ocurre con las plaquetas, por lo que se debe investigar antes de la ET si el recién nacido está trombocitopénico y después de ésta se realizan conteos periódicos de las plaquetas. Constituye una indicación la transfusión de 1 U de concentrado plaquetario, si la cifra de plaquetas está por debajo de $30-40 \times 10^9/L$ ^(Stehling,1994).

**FOTOTERAPIA.*

EL mecanismo por el cual la fototerapia disminuye los niveles séricos de bilirrubina, incluyen la fotoxidación y la fotoisomerización de ésta^(Peterc,1995). La bilirrubina en solución es oxidada por la luz visual en la línea azul del espacio (luz solar o lámpara fluorescente)^(Bowman,1998; Foerster,1998).

La luz azul produce 2 isómeros de bilirrubina indirecta: la fotobilirrubina, la cual se produce en grandes cantidades, es soluble en agua, no tóxica y se excreta por la bilis, y la lumirrubina, la cual se produce en pequeñas cantidades y es excretada rápidamente por la orina y la bilis^(Foerster,1998; Peterc,1995). La lumirrubina es el factor más importante en la reducción de los niveles de bilirrubina sérica por fototerapia. Cuando se aplica fototerapia al recién nacido, cerca del 15% de la bilirrubina de la circulación consiste en fotoisómeros no tóxicos.

La fototerapia ha reducido apreciablemente la necesidad de ET. Sus indicaciones dependen de la edad y madurez del recién nacido. Generalmente debe aplicarse cuando los niveles de bilirrubina sérica están entre 250 y 300 μ mol/L. Debe recordarse que con fototerapia puede haber deshidratación, por lo que es fundamental cuidar el estado de hidratación de estos niños^(Linares,1996; Peterc,1995).

Según Fanaroff y otros, la hiperbilirrubinemia debe manejarse considerando los niveles de bilirrubina sérica, las horas de vida, la madurez del recién nacido y su condición de sano o enfermo^(Fanaroff,1997). La fototerapia no es efectiva cuando la hemólisis es severa y los niveles de bilirrubina se incrementan rápidamente^(Foerster,1998).

PREVENCIÓN DE LA ALOINMUNIZACIÓN POR Rh.

Aunque existen algunos hechos en la historia de la prevención de la isoimmunización por anti-D, incluso anteriores a los experimentos de Stern en 1961, la prevención efectiva de la isoimmunización por anti-D no se empezó a realizar en casi todos los países del mundo hasta los años 1968-1969^(De Alarcón,1996).

Según Bowman, el riesgo de inmunización por Rh está entre un 1.5 y 2% si el feto es Rh positivo y ABO incompatible con la madre; del 2% si una mujer Rh negativa tiene un aborto espontáneo y entre el 4 y 5% si tiene una interrupción provocada^(Bowman,1998).

En 1900, Von Dungern probó el axioma que formó las bases para la profilaxis por Rh, 65 años más tarde. Él inyectó a conejos hembras procedentes de buey. Los conejos produjeron anticuerpos contra los hematíes de buey. Cuando inyectó un segundo grupo de conejos con hembras procedentes del mismo buey, y este grupo poseía suero del primer grupo, este no desarrolló anticuerpos contra células de buey. Con esto demostró que la inmunización activa de un antígeno es prevenida por la presencia de anticuerpos pasivos contra ese antígeno^(Foerster,1998).

Los avances en la prevención de la inmunización por Rh han permitido que en muchos países la incidencia de esta enfermedad haya disminuído dramáticamente. En Mantioba (Canadá)^(Foerster,1998), la prevalencia de inmunización por Rh se ha reducido en un 92% y el número de ET de 226 en 1962 a 0 en 1994. Esto se debe no sólo a la inmunoprofilaxis, sino también al mejor manejo de los fetos severamente afectados, pues al recibir TIU, no requieren ET al nacimiento y solo necesitan de una o más transfusiones simples en las primeras semanas de vida.

No obstante, aproximadamente el 1% de las mujeres Rh negativas desarrollan anticuerpos anti-D durante el embarazo, debido a la hemólisis feto-materna pequeñas y silentes, especialmente en el último trimestre. Estudios en Canadá (Bowman, 1988), en Inglaterra (tovey y otros, 1983) y en Francia (Huchet y otros, 1987), mostraron que la profilaxis prenatal puede reducir la aloinmunización materna al 0.2% o menos^(Lee,1999).

Se aconseja que en los casos de aborto y de utilización de técnicas invasivas, las mujeres Rh negativas sean protegidas^(De Alarcón,1996), aunque las opiniones con respecto a este punto están divididas^(Lee,1999). Cuando los anticuerpos anti-Rh se produzcan en el primer trimestre, la dosis de IgG anti-Rh puede reducirse a 50µg; en el caso de eventos inmunizantes después de las 20 semanas de gestación la dosis a administrar debe ser de 100µg. Si se demuestra hemólisis feto-materna de gran volumen (mayor a 15mL) una dosis adicional de gammaglobulina anti-D debe administrarse^(Lee,1999).

Está establecido que después del parto de un hijo Rh positivo, la mujer Rh negativa no aloinmunizada debe recibir una dosis de 300 µg de IgG anti-D dentro de las 72 horas posteriores al parto, pero ello no excluye que en casos de no administración dentro de este período no se deba hacer hasta 1 semana después del parto^(Martin,1997). Esta dosis protege cuando la hemólisis feto-materna se considera inferior a 15mL. Cuando se sospecha de uan hemólisis feto-materna de mayor volumen, es necesario cuantificarla para administrar la dosis correcta que asegure su protección y en los lugares donde no sea posible su cuantificación, se administrará profilácticamente.

Actualmente la gammaglobulina anti-D se obtiene a partir de mujeres que se inmunizan previamente por el embarazo y de donantes varones inmunizados intencionalmente.

Con el tiempo, la cantidad de mujeres inmunizadas por el embarazo ha disminuído grandemente y en la actualidad se dispone casi exclusivamente del plasma de donantes varones inmunizados intencionalmente. Esto unido a los riesgos potenciales de transmisión de enfermedades virales y el riesgo teórico de contraer la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob^(Lee,1999), ha hecho que los investigadores se hayan dado a la tarea de obtener una gammaglobulina anti-D de origen monoclonal. En la actualidad existen en el mundo al menos 5 anticuerpos monoclonales (AcM) en período de protocolo^(Kumpel,1995). Obtener un AcM seguro y efectivo podría ser el camino para el futuro de la profilaxis anti-D, pero lo que se debe seguir intentando la obtención de anti-D policlonal y vigilar las indicaciones y usos del mismo.

ESPECIFICACIONES PARA LA EHPN-ABO.

Los primeros casos de EHPN-ABO fueron descritos por Halbrech en 1944. En la literatura se señala que esta entidad tiene una alta incidencia^(Linares,1996). En países Sudamericanos y especialmente en Venezuela, una posible explicación es la de infecciones frecuentes en la población con bacterias que presentan antígenos con reactividad cruzada con los grupos químicos de especificidad A o B. A esta conclusión llegaron Layrisse y Layrisse al encontrar altos títulos de anti-A y anti-B en sueros de indios venezolanos de grupo sanguíneo O. Estos individuos nunca estuvieron expuestos a inyecciones de material biológico o de inmunizaciones durante embarazos. Además ha sido ampliamente demostrada la presencia de sustancias A o B en el medio ambiente, abarcando un amplio espectro antigénico que comprende bacterias, alimentos, vacunas y parásitos^(Linares,1996; De Alarcón,1996). En base a estas observaciones, se deben tomar en cuenta para la detección, profilaxis y tratamiento otros parámetros de valoración:

**HALLAZGOS SEROLÓGICOS EN LA MADRE.*

El método más sensible y satisfactorio para su estudio es tratar el suero de la madre con sustancias reductoras como el ditiotreitól (DTT) y el 2-mercaptoetanol (2-ME), que inactivan los anticuerpos IgM y luego se determina el título de IgG anti-A y anti-B mediante la preba de Coombs indirecta con el reactivo monoespecífico anti-IgG. Empleando este método, un título de 512 o más alto fue definido como muy sugestivo de EHPN-ABO. Contreras plantea que empleando esta técnica un título de 64 o más es indicativo de EHPN-ABO^(American Association of Blood Bank,1997; Mollison,1987). Como pueden existir diferencias en cuanto al valor crítico del título por encima del cual este es sugestivo de EHPN-ABO^(Contreras,1989), cada laboratorio debe determinar el valor crítico de esta prueba, y ajustarlo a sus condiciones de trabajo.

Brouwers y otros demostraron la presencia de las 4 subclases de IgG en el suero de 39 madres^(Brouwers,1987). El mecanismo hemolítico en este tipo de enfermedad está encuadrado en el de lisis citotóxica inducida por células fagocíticas, realizada particularmente en el bazo. Brouwers demostró que el complemento no es activado por los anticuerpos IgG anti-A p anti-B en la EHPN-ABO^(Brouwers,1988).

**HALLAZGOS SEROLÓGICOS EN EL NIÑO.*

Son bien conocidos los resultados discrepantes de la prueba de Coombs directa como diagnóstico de EHPN-ABO, ya que esta puede ser positiva, débil o moderada y aún negativa en niños que presentan enfermedad hemolítica severa. En 1973, Romano y otros demostraron que este fenómeno es debido a que existen pocas moléculas de IgG anti-A o anti-B sensibilizando los eritrocitos del recién nacido (menos de 220 moléculas de IgG por hematíe)^(Linares,1996).

Se ha señalado que usando un método más sensible que el tubo para la prueba de Coombs directa, como por ejemplo el autoanalizador, esta sería positiva en todos los casos de incompatibilidad ABO, pues esta metodología emplea potenciadores de baja fuerza

iónica que pueden detectar niveles entre 8 y 85 moléculas de IgG en la membrana eritrocitaria^(Linares,1996).

La elusión de anticuerpos de hemtíes del recién nacido para enfrentarlas a células A o B es otra técnica que se aplica en el estudio de esta entidad, cuando la prueba de Coombs directa es negativa^(Mollison,1987). También se realiza la prueba de autoaglutinación de hemtíes, la cual es positiva^(Linares,1996).

**HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS.*

Existe un incremento de los reticulocitos^(Linares,1996; Mollison,1987) y los valores pueden variar entre 10 y hasta el 30%, como evidencia de un proceso hemolítico compensado. En relación con el recuento de eritroblastos, se citan cifras variables, entre 8 y 15%^(Linares,1996).

La presencia de microesferocitosis (80%) es igualmente un hallazgo prominente en los extendidos de sangre periférica, se observan cambios en la curva de fragilidad osmótica, los cuales pueden persistir hasta 2 o 3 semanas después del nacimiento^(Linares,1996).

**MANEJO DE LA EHPN-ABO*

La incompatibilidad ABO no presenta la severidad y progresión de la observada en la incompatibilidad por Rh, por lo que no hay indicación para la realización de pruebas predictivas en la madre, a menos que exista una historia previa de EHPN-ABO.

Después del parto, como el recién nacido no presenta una anemia severa por lo general, el aumento de los niveles de bilirrubina puede tratarse con fototerapia, si el recién nacido presenta anemia severa y amerita una ET, esta debe realizarse utilizando hematíes de grupo O, suspendidos en plasma de grupo AB, preferiblemente de un donante ABH^(Linares,1996; Mollison1987).

Hablando de una manera general, la prevención ha sido y es el punto clave en esta enfermedad. Las experiencias llevadas a cabo en los años sesenta partiendo de la hipótesis

de que la isoimmunización podría prevenirse destruyendo los hematíes fetales de la circulación materna mediante la administración de anticuerpos específicos llevó a la implantación casi universal de esta medida, con una drástica reducción en la aparición de nuevos casos. Sin embargo, desde principios de los años ochenta las cifras muestran un estancamiento que resulta casi imposible de reducir. La mayoría de los fallos en la profilaxis son debidos a una isoimmunización anterior al momento del parto que es cuando habitualmente se realiza. Esto llevó a la recomendación de realizar una profilaxis en la 28 semana de gestación en toda madre Rh negativa no sensibilizada.

Las indicaciones de la profilaxis pueden resumirse en: toda madre Rh negativa no sensibilizada debe recibir profilaxis en la 28 semana y en las primeras 72 horas después del parto. También después de un aborto, mola, amniocentesis, biopsia corial y cualquier otro procedimiento intraútero.

Los nuevos casos que aparecen son debidos a no seguir estrictamente estas medidas, en particular la profilaxis en la 28 semana, que como medida de política sanitaria general no ha sido aceptada por todos. También la desproporción entre la gammaglobulina empleada (habitualmente 300 µg) y la cantidad de hematíes fetales en sangre materna puede hacer fracasar la profilaxis. Más rara es la inmización por la transfusión inadvertida de productos Rh incompatibles.

Con una correcta política de prevención puede llegarse a solamente una sensibilización por cada 10,000 mujeres.

CAPÍTULO III. CONCLUSIONES.

Al realizar esta revisión bibliográfica, pude constatar la importancia que tiene principalmente la comunicación que debe haber entre los profesionales de la salud con los pacientes, ya que esta es la base para poder comenzar a elaborar un protocolo serio de investigación prenatal y posnatal, con la finalidad de realizar un seguimiento riguroso que permitirá hacer un buen diagnóstico de EHPN y la aplicación del tratamiento adecuado para cada paciente. Sin embargo no es el único punto de importancia a resaltar en esta revisión ya que como mencioné en la introducción, hay que comenzar a relacionar todos los temas y personas involucradas con todo lo que conlleva preparar la historia clínica de los diferentes casos que se pueden llegar a presentar en esta enfermedad.

Para poder establecer dicha comunicación, es necesario comenzar a pensar como un paciente y no como Médico con el propósito de facilitar la comprensión de la información necesaria que hay que aportar de hecho mucho antes de que se piense en un embarazo. Sin embargo es en este punto en donde se puede tener menos control, ya que las condiciones socio-culturales y económicas de los pacientes interfieren de manera directa en el seguimiento y el éxito que se pudiera llegar a presentar en cada protocolo. Es por este motivo que hay que comenzar por tratar de usar un lenguaje mucho más sencillo y coloquial que permita a la madre y a su pareja una mayor comprensión de la información que se les desea transmitir, así como de las preguntas que se les realicen durante las entrevistas en las diferentes áreas por las que deben pasar antes, durante y después de un embarazo.

La profilaxis en esta enfermedad como en muchas otras, es el punto al que más impulso debe dársele en un protocolo, ya que es la forma de prevenir todo lo que puede llegar a desencadenarse de la unión de 2 personas que no sean compatibles en muchos aspectos médicamente importantes. La información que se les debe dar a las parejas desde que deciden hacer una familia, juega un punto muy importante en éste tema. El problema de la poca difusión que tiene la información prenatal viene desde las autoridades

legislativas en el ámbito civil, ya que parece increíble que en los análisis prenupciales (que además ya no son indispensables), no se incluya la determinación de parámetros tan importantes como lo son la tipificación del grupo sanguíneo de cada uno de los conyuges, así como la prueba del VIH y del VPH.

La discusión de este tema no sólo debe quedar limitada a la importancia de la elaboración del protocolo, si no hay que hacer énfasis también en la intervención que tienen las unidades de diagnóstico con el apoyo que dan al Médico para poder dar seguimiento a sus pacientes. El trabajo que se realiza en el laboratorio clínico aplicando las técnicas más modernas y confiables, permite que se nos aporten resultados más precisos y exactos al analizar los diferentes parámetros que hay que considerar en la evaluación de la enfermedad, así como las pruebas especiales que se realizan en los bancos de sangre, para las determinaciones inmunohematológicas que son primordiales en la elaboración de la historia clínica de los pacientes; y de igual forma la intervención de ultrasonografía y laboratorios de Anatomía Patológica. Y es debido precisamente a esta relación, que también debe haber entre estas áreas colaboración y un intercambio constante de información, datos, resultados, estadísticas y reportes, para de esta manera poder llegar a unificar criterios y parámetros de evaluación en el diagnóstico de la EHPN.

Con lo que respecta al tratamiento, también nos topamos con algunos aspectos ajenos a lo que el protocolo de seguimiento se refiere, es decir en este punto esencialmente interviene el factor económico, ya que la gran mayoría de las Instituciones de Salud no cuentan con la prestación de la aplicación de la vacuna que para las madres Rh negativas es indispensable para evitar la isoimmunización la cual en el mercado se cotiza elevada de precio.

Lo importante al discutir este tema en particular es tratar de difundir lo mejor posible la información mínima indispensable que sea digerible y de fácil acceso para las comunidades, en especial a los jóvenes, y aunque suene repetitivo este logro también sería desencadenado de la comunicación e interrelación de todos los involucrados en el sector

salud, tanto en instituciones gubernamentales como en particulares, tratando de realizar pláticas dirigidas en especial a las parejas jóvenes que estén pensando en formar una familia en donde sea posible informarles la importancia de la asistencia al Médico antes, durante y después de un embarazo, involucrando desde la planificación familiar, hasta todas las consecuencias que pueden traer las enfermedades de transmisión sexual, así como las que pueden llegar a afectar a la pareja y a su descendencia, entre ellas lógicamente la Enfermedad Hemolítica Perinatal.

BIBLIOGRAFIA.

1. Abrahamov A., Salzberger M. and Bromberg M. Fetal hemoglobin in postmature newborn infants, *am. J. Clin Path* 26:146,1996
2. Adams F.H. and Cunningham S.C. Fragility of red blood cells from newborn infants and children with congenital heart disease. *J. Pediat.* 39:180,1991
3. Allen, L.B., Wyman J., Jr and Smith, C.A. The oxygen equilibrium of fetal and adult human hemoglobin. *J. Biol. Chem.* 203:81,1993
4. American Association of Blood Bank. Asociación Argentina de Memoterapia e Inmunología Manual Técnico. 12ª ed. Buenos Aires:Edigraf,1997:443-60
5. Bayliss K.M. Kueck B.D., Johnson S.T., Fueger J.T., McFadden P.W., Milkulski D., et.al. Detecting fetomaternal hemorrhage: a comparison of five methods. *Transfusion* 1991;31:303-7
6. Beutler E., Glucosa-6-phosphate dehydrogenase. New perspectives. *Blood* 1989;74:1397-401
7. Beutler E., Kuhl W. et al Some Mexican glucosa-6-phosphato dehydrigenase variants revisited. *Hum Genet.* 1991;86:371-374
8. Bevis, D.C.A.: Blood pigments in haemolytic disease of the newborn, *J. Obst.&Gynaecd. Brit Emp.* 63:68,1996
9. Blood Biotechnology. International blood/plasma news. February 2002.
10. Bowman J.M. Immune hemolytic disease. En: Nathan D.G., Okin S.H. ed *Hematology of infancy and childhood* 5th ed. Philadelphia: Saunders,1998:53-78
11. Braveman P., Egerter S., Pearl M. Early discharge of newborns and mother: a critical review of the literature. *Pediatrics* 1995;96:716-726
12. Bromilow I.M., Duguid J. K.M. Measurement of feto-maternal haemorrhage: a comparative study of three Kleinhaver techniques and two flow cytometry methods. *Clin. Lab Haematol.* 1997;19:137-42

13. Brouwers HAA., Overbeeke M.A.M., Gamke R.J.B.J., Maas C.J., Leeuwen E.F. van Engelfriet C.P. Sensitive methods in sera of blood group O women with a blood group A or B child. *Br. J. Haematol* 1987;66:267-70
14. Brouwers HAA., Overbeeke M.A.M., Ouwehand K., Keuning Y, van Ertbruggen, Van Leewen E.F. Stoop J.W. Engelfriet C.P. Maternal antibodies against fetal blood group antigens A or B: lytic activity of IgG subclass in monocyte-driven cytotoxicity and correlation with ABO haemolytic disease of the newborn. *Br. J. Haematol.* 1988;70:465-9
15. Catalán M.A. Conceptos actuales en diagnóstico y tratamiento de la enfermedad hemolítica del recién nacido *Rev. Argent. Transf.* 1996;22:23-27
16. Clarke C.A. Prophylaxis of rhesus isoimmunization. *Br. Med. Bull.* 1988; 24:3-9
17. Clovis P. Enfermedad hemolítica perinatal. En: López Borrosca, A. Enciclopedia iberoamericana de hematología. Salamanca: Ediciones universidad de Salamanca, 1992:424-38
18. Contreras M. Haemolytic transfusion reactions and transfusion errors. *Bol Soc Hematol Memol.* 2033. Supp Esp.
19. Contreras M. Antenatal tests in the diagnosis and assessment of severity of hemolytic disease (HD) of the fetus and newborn (HDN). *VoxSang* 1994; 67:207-9
20. Contreras M., Knight R.C. General approach to blood transfusion and immunohematology and red blood cell serology. En Chanarian I. *Laboratory hematology.* London: Churchill Livingstone 1989:403-33
21. De Alarcón P.A. Transfusiones en el paciente pediátrico y neonato *Rev. Arg. Transf.* 1996;22:63-9
22. De Palma L., Luban N.L.C. Alloimmune hemolytic disease of the newborn. En: Beutler E., Lichtman M.A. Coller B.S. Kipps T.J. ed. *Williams Haematology* 5th ed. New York, McGraw-Hill

23. Desforgers H., O'connell G. Hemoglobin solution-update on clinical evaluations and future prospects. Consensus Conference on Red Cell Transfusion Edinburgh. Royal College of Physicians. 2004
24. Downey H. Handbook of hematology New York, 1988 Paul B. Hoeber Inc.
25. Eastman, N.J., Geiling, E.M.K. and Dehawder, A.M. Fetal blood studies; oxygen and carbon-dioxide dissociation curves of fetal blood. Bull Johns Hopkins Hosp. 53:246;1993
26. Erslev A. Humoral regulation of red cell production. Blood, 8:349,1993
27. Erslev A., and Lavietes P.H. Observations on the nature or the eritropoietin serum factor. Blood,9:1055,1994
28. Fanaroff A.A., Martin R.J. Neonatal-perinatal medicine En: Disease of the fetus and infant 6th ed. St Louis; Mosby. 1997;1201-87
29. Foerster J. Alloimmune hemolytic anemias. En: Lee G.R., Bithell T.C., Foerster J. eds Wintrobe's clinical hematology 10a ed Baltimore: Williams and Wilkins 1998:1210-32
30. Gartner L.M., Lee K.S., Jaundice and Liver disease. In: Fanaroff A.A., Martin R.J. Editors Neonatal-Perinatal Medicine Diseases of the fetus and infant. 4th edition, St. Lovise 1987 C.V. Mosby
31. Grabrio B.W., Finch C.A. and Huennekens F.M. Erythrocyte preservation; a topic in molecular biochemistry. Blood 11:103,1996
32. Granick, S. The chemistry and functioning of the mammalian erythrocyte. Blood 4:404,1994
33. Grant W.C. and Root W.S. Fundamental stimulus for erythrocyte, Physiol. Rev. 4:449,1992
34. Gravenhorst J.B. Diagnosis and treatment of febrile alloimmunization. VoxSang 1994;67:235-8
35. Grob D., Paulus W.E., Bommer A., Buck G., Terinde R. Treatment of fetal erythroblastosis by intravascular transfusions: outcome at 6 years Obstet. Gynecol 1999;93:165-8

36. Gross R.T., Schroede E.A. and Brounstein O. Energy metabolism in the erithrocytes of premature infants and adults. *Blood* 21:755,1993
37. Hillman R.S., Aula K.A. Hemolytic anemias En: *Hematology in clinical practice. A guide to diagnosis and management.* New York: Mac Graw-Hill, Inc,1995;172-196
38. Hoffbrand A.V., Petit J.E. *Atlas of clinical haematology ilustrade.* Gower Medical Publishing, Londres 1988
39. Kabat E.A. *Blood group substances,* New York,1996. Academic Press Inc
40. Klemperer M.R. Anemia hemolítica: defectos inmunes. En: Millar D.R., Pearson H.A., Baehner R.L., McMillan C.W. eds *Hematología pediátrica 3ª* LaHabana Editorial Científico-técnica, 1996:291-320
41. Kumpel B.M., Goodrik J. Pamphilon D.H., Frase D., Poole G.P., Morse C. etal Human Rh monoclonal antibodies (BRAD-3 and BRAD-5) cause accelerated clearence of Rh D+ red blood cells and supression of Rh d immunization in Rh D volunteers. *Blood* 1995;86:1701-9
42. Larysse m., Klein H.G. Immunological aspects of blood transfusion. *Smin Oncol* 2004; 21:16-20
43. Le Ven Kim C., Mauro I, Brossard Y., Charine J., Cartron J.P., Colin Y. PCR-based determination of Rhc and RhE satatus of fetus at risk of Rhc and RhE haemolytic disease. *Br. J. Haematol* 1994;88:193-5
44. Lee D., Contreras M., Robson S.C., Rodeck C.H., Whittle M.J. Recommendations for the use of anti-D immunoglobulin for Rh prophylaxis. *Transf. Med.* 1999;9:93-7
45. Levine, P: the mechanism of isoimmunization by Rh factor of red blood cells. *Arch. Path.* 37:83 1984
46. Linares J. Enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO (EH-ABO). *Rev Argent Transf.* 1996; 12(1):11-21
47. Lisker R. Panorama de la deficiencia de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa eritrocítica. *Rev Invest. Clin.* 1992;44:277-282

48. Lucey N., Griffiths E., Cortés A. Hemoglobin based blood substitutes and sepsis. *Lancet*, 2004; 345:158-160.
49. Lubenko A., Contreras H., Rodeck C.H., Nocolini U., Savege J., Chana H. Tranplacental IgG subclass concentration in pregnancies at risk of hemolytic disease of the newborn, *VoxSang* 1994; 67:291-8
50. Maisels J.M. y Newman P.V. Kernicterus in other wise healthy breast-fed term infants. *Pediatr.* 1995; 96:730-733
51. Maisels M.J., Kring E., Length of stay jaundice and hospital readmission rate. *J. Pediatr.* 1998;101:995
52. Margulies M., Voto L.S., Mathet E. High dose intravenous IgG for the treatment of severe rhesus aloimmunization. *Vox Sang* 1991;61:181-9
53. Martin C. Diagnóstico prenatal y estado actual de la prevención de la isoimmunización fetomaterna por anti-D *Sangre* 1997;42:239-41
54. Mollison P.L., Engelfriet C.P. Contreras M. Blood ransfusion in clinical medicine 8ed. Oxford; Bkckwell Scientific, 1987
55. Peterc S.M. Management of neonatal Rh disease. *Clin Perinatol* 1995;22:561-92
56. Playfair J.H.L., Wolfendale M.R., and Kay E.H.M. The leukocytes of perifheral blood in the human fetus. *Brit. J. Haemat* 9:336,1993
57. Prankerd T.A. The metabolism orf the human erythrocyte; a reviw, *Brit. J. Haemat.* 1:131,1995
58. Queenan J.T. Eritroblastosis fetal. En: Fanaroff A.A., Martin R.J., Merkatz I.R., eds. *Behrman Enfermedades del feto y del recién nacido.* La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1986:58-68
59. Roberts A.F. Some associations between blood groups and disease. In Galton D.A.G. and Goldsmith K.L.G. edit. *British Medical Bulletin.* Chicago 1961. The Univercity of Chicago. Press p. 130
60. Rossister J.P., Blakemore K.J., Cickler T.S., Kasch L.M., Khouzami A.N. Pressman E.K., et.al. The use of polymerase chain reaction to determine fetal Rh-D satatus. *Am J. Obstet. Gynecol.* 1994;171:1047-51

61. Shojania, A.M., Rolan M., Simovitch H., Israels L.G. and Zipursky A. Alterations in red cell structure and metabolism associated with rapid blood production; the stress reticulocyte. *J. Pediat.* 65:1101,1994
62. Sids J.W., Bowes W.A., Ultrasound-gaided intravascular transfusion in severe rhesus immunization. *Am J. Obstet Ginecol* 1986;154:1105
63. Stehling L., Luban M.L.C., Anderson K.C., Sayers M.H. Long A., Attar S., et.al. Guidelines for blood utilization reviw. *Transfusion* 1994;34:438-48
64. Steiner E.A., Judd W.J. Oberman H.A. Percutaneous umbilical blood from maternal blood. *Transfusion* 1990;30:104-8
65. Stohlman F., Jr: Erithropoiesis. *New Englan J. med.* 267:342,392,1992
66. Stohlman F., Jr: Erithropoietin. *Pediatrics* 23:835,1989
67. Thompson R.B., Mitchner J.W. and Huisman T.H.J. Studies on the fetal hemoglobon in the persistent high HBF anomaly. *Blood* 18:267,1993
68. Windle, W.F. *Physiology of the fetus.* Philadelphia 1990, W.B. Saunders Co.
69. Wintrob M.N. *Clinical hematology,* Philadelphia, 1956 Lea&Febiger
70. Zipursky A., Neelands P.J. Pollack J., Chown B. and Israels L.G. The distribution of the hemoglobin in the blood of normal children and adults, *Pediatrics* 30:262,1982