

Revista Médica del IMSS

Volumen
Volume 43

Suplemento
Supplemento

2005

Artículo:

Inmunohematología: estudios
pretransfusionales en pacientes con
anticuerpos irregulares

Derechos reservados, Copyright © 2005:
Instituto Mexicano del Seguro Social

Otras secciones de
este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

*Others sections in
this web site:*

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



Medigraphic.com

Inmunohematología: estudios pretransfusionales en pacientes con anticuerpos irregulares

Con el descubrimiento del grupo sanguíneo ABO se inició el hallazgo y estudio de todos los antígenos sanguíneos en los leucocitos y en plaquetas, y el descubrimiento de más de 600 antígenos eritrocitarios, para los cuales se han propuesto diferentes clasificaciones. Desde 1980, la Sociedad Internacional de la Transfusión, a través de consensos internacionales, ha logrado sistematizar los nombres y símbolos basándose en la información científica recabada durante una centuria; los ha agrupado en sistemas, colecciones y series.¹

Los antígenos eritrocitarios pueden ser producto directo de los genes, como el sistema Rh, Duffy, Kidd, Diego y otros, o ser productos indirectos: el gen codifica para una enzima que a su vez producirá un antígeno, como en el sistema ABO. La herencia está regida por la Ley de Mendel, de tal forma se pueden transmitir caracteres codominantes: grupo AB, Fy(a+b+), Ss; caracteres dominantes: antígenos A y B sobre el antígeno H; o pueden presentarse genes amorfos. Se puede tratar de proteínas, glucoproteínas, sialoproteínas o glucolípidos.

■ *Sistemas:* en ellos se agrupan dos o más antígenos que comparten características: genes, herencia independiente de otros sistemas, estructura química, topografía en la membrana y función en el eritrocito. Son controlados por un *locus* genético o por dos o más *loci* estrechamente relacionados. Se conocen 23 sistemas, los más conocidos son el ABO y Rh; debemos considerar que los restantes tienen la misma importancia tanto en las funciones del eritrocito como en la transfusión sanguínea.²

■ *Colecciones:* en ellas se agrupan los antígenos que no han podido ser clasificados totalmente pero que comparten algunas características genéticas, bioquímicas y estructurales. Los más conocidos son los antígenos Ii, de gran importancia en las anemias hemolíticas autoinmunes, y la colección *Globo*, que está relacionada con el sistema P.

■ *Series:* son antígenos pendientes de clasificar porque algunas de sus características bioquímicas o genéticas no están totalmente dilucidadas y presentan discrepancias con los antígenos de los sistemas ya clasificados. Generalmente son antígenos únicos que se clasifican con un número: serie 700 de baja incidencia cuando su frecuencia es menor a 1 % en la población mundial, y serie 901 o de alta incidencia cuando se encuentran en más de 99 % de la población.

■ *Anticuerpos:* moléculas de inmunoglobulinas producidas por el sistema inmune en respuesta a la presencia de antígenos reconocidos como extraños. Son la parte principal de la inmunidad humoral y son producidos por linfocitos B en aproximadamente 3 g por día. Se clasifican en IgM, IgG, IgA, IgE e IgD, siendo de importancia clínica en la transfusión sanguínea IgM, IgG y raras veces IgA.³

■ *Respuesta primaria:* en la primera exposición a un antígeno extraño se inicia una producción lenta y en poca concentración de anticuerpos tipo IgM; se le conoce también como respuesta innata, natural o nativa, y está constituida por mecanismos de producción rápida de anticuerpos contra microorganismos.

■ *Respuesta secundaria:* adaptativa, o específica, se presenta después de una segunda exposición, hay

Palabras clave

- ✓ inmunohematología
- ✓ estudios
- ✓ pretransfusionales
- ✓ anticuerpos
- ✓ irregulares

Key words

- ✓ immunohematology
- ✓ pretransfusion testing
- ✓ antibody screening

una producción rápida con alta concentración principalmente de anticuerpos específicos de clase IgG, con una producción moderada de IgM.

Los anticuerpos se encuentran intracelularmente en el retículo endoplásmico y en el complejo de Golgi, y extracelularmente en el plasma, secreciones mucosas y líquido intersticial. IgA es producida por los linfocitos en paredes de los aparatos digestivo y respiratorio.

Todas las moléculas de inmunoglobulinas tienen características estructurales que les permiten realizar sus funciones:⁴

Cuadro I
Subclases de IgG y sus características

Características	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Concentración en suero	64 a 70 %	23 a 28 %	4 a 7 %	3 a 4%
T50 días sobrevida	22	22	9	22
Fijación de complemento	++	+	+++	No
Cruza placenta	+	+	+	+

Longitudinalmente constan de dos cadenas ligeras de 24 kD y dos cadenas pesadas de 35 a 70 kD. Las uniones de las cadenas ligeras con las cadenas pesadas y las dos cadenas pesadas entre sí son tipo covalente por puentes disulfuro.

Haciendo un corte transversal, la molécula consta de un fragmento de unión al antígeno: región Fab y un fragmento cristalizable, región Fc.

La *región Fab* se divide en *región constante* y *región variable*. Cada una tiene una *región hipervariable* formada por aproximadamente 10 residuos de aminoácidos, es el sitio donde se une al antígeno de manera específica y al que se le conoce como epítopo. El reconocimiento antigenico implica una unión reversible no covalente formada por fuerzas electrostáticas, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Walls e interacciones hidrofobas.

La *región Fc* desempeña varias funciones biológicas relacionadas con la activación del complemento, transferencia placentaria, sensibilización dérmica, fijación a macrófagos, uniones disulfuro para formar IgM, uniones para la formación de la fracción secretora de la IgA, y otras.

Existen más de 10^7 moléculas de anticuerpos diferentes en cada sujeto con secuencias de aminoácidos únicas en sus sitios de unión con el antígeno.

■ *IgM*: constituye entre 5 y 10 % de las inmunoglobulinas del plasma y está integrada por cinco unidades Fab unidas por enlaces covalentes a una cadena central (cadena J), formando un pentámero. Se puede encontrar en el plasma y por su alto peso molecular no atraviesa la barrera placentaria. Aunque tiene 10 sitios de unión a los antígenos, en realidad sólo cinco son funcionales.

■ *IgG*: comprende 75 % del total de las inmunoglobulinas en el plasma. Se han detectado cuatro subclases con diferencias en sus actividades biológicas, como puede apreciarse en el cuadro I.

Es muy importante correlacionar el cuadro I con los anticuerpos encontrados en la búsqueda cotidiana de sangre compatible para la transfusión en los pacientes politransfundidos y que presentan anticuerpos irregulares, en la inmunización maternofetal y en mezclas de alo y autoanticuerpos de pacientes con anemia hemolítica autoinmune. La relación de las inmunoglobulinas y el complemento es muy importante para inferir el riesgo de la transfusión en pacientes con anticuerpos irregulares, tomando en cuenta que para la fijación de complemento mediado por anticuerpo es necesaria la presencia de dos moléculas adyacentes de IgG y aproximadamente 800 de estas moléculas por eritrocito para su activación. Se ha demostrado que una sola molécula de IgM es capaz de activar el complemento.

En primer lugar tenemos al Sistema ABO.^{3,5,6} El anti-AB puede ser una IgM que fija complemento más IgG de subclase 1 y 3, de ahí su importancia como anticuerpo hemolítico muy peligroso; se han reportado casos de anticuerpos Kidd^a, Kidd^b, Duffy^a, Lewis^a y Lewis^b capaces de fijar complemento hasta C9, causando hemólisis con predominio intravascular; en nuestra experiencia hemos encontrado una frecuencia muy alta de anticuerpos A, B hemolíticos en los donadores del grupo sanguíneo O y que no son neutralizados a diluciones de hasta 1:32 volúmenes con plasmas de pacientes secretores de grupo AB, así como una mayor frecuencia de sueros hemolíticos por anti-Jk^b, JK^a según lo reportado por autores que realizaron estudios en pacientes de raza europea.

En la práctica^{7,8} es siempre necesario conocer los antecedentes del paciente al que se va a estudiar. Lo más frecuente son los hallazgos al realizar estudios previos a la transfusión de concentrados de eritrocitos en pacientes con estímulos previos por embarazos o transfusiones incompatibles. Dentro de este grupo puede tratarse de pacientes con transfusiones lejanas, más de cuatro meses de la fecha de la última transfusión o pacientes con transfusión reciente en los que es posible encontrar una prueba de Coombs directo positiva porque los anticuerpos producidos opsonizan los eritrocitos transfundidos. El otro grupo lo forma el binomio madre-recién nacido con inmunización materno fetal, en donde es necesario estudiar tanto a la madre, al recién nacido y, de ser posible, el grupo sanguíneo ABO, Rho(D) y fenotipo eritrocitario del padre del niño afectado para corroborar los anticuerpos encontrados. El tercer grupo lo constituyen los pacientes con anemia hemolítica autoinmune (AHA), que es el grupo más difícil de estudiar porque es necesario separar en el suero del paciente y en sus eritrocitos, los autoanticuerpos y los aloanticuerpos para determinar la especificidad a cada uno. En más de 80 % de los casos de anemia hemolítica autoinmune aparece un anticuerpo que reacciona a 37 °C. La prueba directa de la antiglobulina es casi siempre positiva y la investigación de anticuerpos libres en suero en algunas ocasiones puede ser negativa. Según reportes en la literatura,⁸ en más de 80 % de los casos se detecta IgG en los eritrocitos, casi 50 % de éstos revelan la presencia de complemento y cerca de 10 % puede demostrar sólo complemento.

Para realizar esto correctamente se debe seguir una secuencia, iniciando con la historia clínica del paciente: nombre, número de registro, hospital, edad, sexo, diagnóstico de fondo y otros, fecha de inicio y evolución. En cuanto a la historia transfusional: número de productos transfundidos, fecha de última transfusión, reacciones transfusionales presentadas y tipo; datos de la exploración física, valores de biometría hemática, bilirrubinas, DHL. En el caso de las mujeres, antecedentes ginecoobstétricos.

- *Muestras sanguíneas:* 10 mL de sangre sin anticoagulante y 7 mL con EDTA.
- *Estudios:* investigación de anticuerpos anti-eritrocitos libres en el suero.
- *Técnicas:* salina, hiperproteica, enzimática (bromelina y ficina), LISS, autoadsorción a 4 y

37 °C, adsorción con sangre fenotipada, Coombs directo, Coombs específico, investigación de anticuerpos con despegado de los eritrocitos, titulación de anticuerpos libres con despegado de los eritrocitos, despegado de anticuerpos con glicina a pH ácido.

Todos los protocolos de investigación de anticuerpos deben iniciarse con el grupo sanguíneo ABO y Rho(D). Aun cuando se conozcan estos datos previamente, la investigación de anticuerpos irregulares libres en suero debe realizarse por lo menos con dos técnicas, la primera siempre será la salina llevada hasta la fase de Coombs, ya que en la mayoría de los casos permite diferenciar la IgM en su fase rápida, a 22 y 37 °C de la IgG en su fase de Coombs. Una segunda técnica puede ser un medio hiperproteico como la albúmina, o enzimas como bromelina o LISS, siendo esta última la más eficaz.

Para dilucidar el fenotipo eritrocítico del paciente es muy importante conocer la fecha de la última transfusión de concentrado de eritrocitos y el volumen transfundido, para así evaluar las técnicas necesarias para la separación de las poblaciones celulares si fuese necesario. A los pacientes con transfusiones recientes primero se les debe hacer una separación celular por gradiente de centrifugación y estudiar por separado y en paralelo los eritrocitos de la superficie y del fondo del paquete celular, sabiendo que en la superficie estará la mayoría de los neocitos (eritrocitos jóvenes del paciente) y en el fondo la mayoría de los transfundidos.

En los pacientes con Coombs directo positivo es necesario el tratamiento de los eritrocitos con glicina a pH ácido para eliminar los anticuerpos unidos a los antígenos, recordando que los antígenos del sistema Kell se destruyen con este tratamiento y los del sistema Lewis, P y MN se vuelven positivos en la mayoría de los tratamientos.

Las columnas de gel⁹ utilizadas para el Coombs directo específico para la separación de poblaciones celulares diferentes provenientes de la transfusión de eritrocitos y para la separación de autoanticuerpos y aloanticuerpos, son la mejor opción por su eficiencia para la separación, facilidad de lectura y porque se puede llegar a un consenso de lo observado, algo que no puede lograrse con la lectura en pruebas de tubo de vidrio.

José Luis Alcaraz-López.
Inmunohematología

Todo esto nos lleva a buscar por dos caminos específicamente los eritrocitos compatibles: los anticuerpos irregulares encontrados en el suero, los unidos a los eritrocitos, así como el fenotipo eritrocitario del paciente, teniendo mayor cuidado en la compatibilidad de los antígenos de los sistemas Rh (D, C, E, c, e), Kell, Duffy, Diego, Kidd y Ss, implicados con mayor frecuencia en las reacciones transfusionales en la población mestiza mexicana.

Referencias

1. Radillo G, Escamilla G, Medicina transfusional. México: Prado; 1999. p. 72-76.
2. Linares J. Inmunohematología y transfusión, principios y procedimientos. Caracas, Venezuela: Cromotip; 1986. p. 1-31.
3. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. Tenth edition. United Kingdom: Blackwell Science; 1997.
4. Abbas AK, Lichtman AH. Inmunología celular y molecular. Quinta edición. Madrid, España: Elsevier; 2003. p. 43-63, 326-344.
5. Dacie JV. Practical haematology. Eighth edition. London: Churchill Livingstone; 1995. p. 445-463.
6. Murphy M, Pmphon D. Practical transfusion medicine. London: Blackwell Science; 2002. p. 13-35.
7. Dacie JV. The haemolytic anaemias, the autoimmune haemolytic anaemias. Third edition. London: Churchill Livingstone; 1992. p. 97-114, 127-158.
8. Rodríguez H, Quintanar E, Mejía-Arregui M. Medicina transfusional y banco de sangre. México: Panamericana; 2004. p. 45-85.
9. Fabijarska-Mitek, Lopieriska H, Zuparska B. Gel test application for IgG subclass detection in autoimmune haemolytic anaemia. Vox Sanguinis 1997; 72:233-237. 