

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**PATOLOGIAS MÁS FRECUENTES ASOCIADAS A LA FORMACIÓN
DE ANTIGENOS Y ANTICUERPOS ERITROCITARIOS.**

MIURIL MARINA LOPEZ AREAS

**Tesis
Presentada ante las autoridades de la
Escuela de Estudios de Postgrado de la
Facultad de Ciencias Médicas
Maestría en Patología
Para obtener el grado de
Maestra en Ciencias en Patología
Enero 2,014**

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Páginas
RESUMEN	i
I INTRODUCCION	1
II ANTECEDENTES	2-25
III OBJETIVOS	26
IV MATERIAL Y MÉTODOS	27-31
V RESULTADOS	32-35
VI DISCUSIÓN Y ANÁLISIS	36-37
VII REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	38-41
VIII ANEXOS	42-44

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
TABLA N _o 1	32
TABLA N _o 2	32
TABLA N _o 3	33
TABLA N _o 4	34
TABLA N _o 5	34
TABLA N _o 6	35



ESCUELA DE
ESTUDIOS DE
POSTGRADO

Facultad de Ciencias Médicas Universidad de San Carlos de Guatemala

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

HACE CONSTAR QUE:

La Doctora: Miuril Marina López Areas

Carné Universitario No.: 100018121

Ha presentado, para su EXAMEN PÚBLICO DE TESIS, previo a otorgar el grado de Maestra en Ciencias en Patología, el trabajo de tesis **"Patología; más frecuentes asociadas a la formación de antígenos y anticuerpos eritrocitarios"**.

Que fue asesorado: Dra. Gladys Murga

Y revisado por: Dr. Carlos Enrique Sánchez Rodas MSc.

Quienes lo avalan y han firmado conformes, por lo que se emite, la ORDEN DE IMPRESIÓN para enero 2014.

Guatemala, 29 de octubre de 2013



Dr. Carlos Humberto Vargas Reyes MSc.
Director
Escuela de Estudios de Postgrado



Dr. Luis Alfredo Ruiz Cruz MSc.
Coordinador General
Programa de Maestrías y Especialidades

/lamo

Oficio No.2
Guatemala 15 febrero de 2013

Dr. Edgar Rolando Berganza
Coordinador Específico
Escuela de Estudios de Postgrado
Universidad San Carlos de Guatemala
Hospital Roosevelt
Presente

Estimado Dr. Berganza:

Por este medio le informo que el informe final de mi tesis de Graduación titulado DETERMINACION DE LAS PATOLOGIAS MAS FRECUENTES ASOCIADAS A LA FORMACION DE ANTIGENOS Y ANTICUERPOS ERITROCITARIOS, correspondiente al estudiante Miuril Marina Lopez Areas de la Maestría en patología.

Por lo que apruebo el trabajo anteriormente mencionado para que proceda con los trámites correspondientes

Sin otro particular, me despido de usted,

Atentamente


Dra. Gladys Murga
Medico Jefe de Banco de Sangre
Hospital Roosevelt
Asesora



Oficio No.3
Guatemala 15 febrero de 2013

Dr. Orlando Rodas Pernillo
Docente Responsable
Maestría de Patología
Departamento de Patología
Hospital Roosevelt
Presente

Estimado Dr. Rodas:

Por este medio le informo que he sido REVISOR del trabajo de investigación titulado, DETERMINACION DE LAS PATOLOGIAS MAS FRECUENTES ASOCIADAS A LA FORMACION DE ANTIGENOS Y ANTICUERPOS ERITROCITARIOS, correspondiente al estudiante Miuril Marina Lopez Areas de la Maestría en patología.

Por lo que apruebo el trabajo anteriormente mencionado para que proceda con los trámites correspondientes

Sin otro particular, me despido de usted,

Atentamente

Dr. Carlos Sánchez
Docente de Investigación, Universidad San Carlos de Guatemala
Hospital Roosevelt
REVISOR



RESUMEN

En el Hospital Roosevelt se realiza un promedio de 59 transfusiones de hemocomponentes al día, con una producción mensual de 1,838; encontrando una prueba de coombs positiva (directa-indirecta) en un promedio de 60 pacientes mensualmente.

El presente estudio de tipo descriptivo, se realizó en pacientes con ambas pruebas de coombs positivo encontrados en el Banco de Sangre del Hospital Roosevelt, asociando las patologías más frecuentes con la formación de complejos antígeno-anticuerpo y la incompatibilidad sanguínea.

A través de la prueba de coombs directa fue posible identificar a los antígenos presentes en los eritrocitos y con la indirecta fue posible identificar qué tipo de anticuerpo en el suero se encontraba presente en los pacientes. Entraron a estudio 55 pacientes con un porcentaje de incidencia del 3% de lo esperado mensualmente, siendo el 75% de los casos de sexo femenino y 25% de sexo masculino, con detección de antígeno-anticuerpo que presentaron algún tipo de incompatibilidad sanguínea; siendo los rangos de edad más afectados pacientes con más de 40 años (29%), con algún tipo de antecedente patológico, pero con la formación de al menos tres complejos de antígeno-anticuerpo.

Las patologías más frecuentes asociadas a la formación de antígeno-anticuerpo son Anemia Hemolítica Autoinmune y Sepsis, siendo los complejos antígeno-anticuerpo Anti-Rh, Anti-Kell y Anti-Lutherand, asociados a la incompatibilidad sanguínea.

I. INTRODUCCIÓN

El presente estudio de tipo descriptivo fue realizado en el Banco de Sangre del Hospital Roosevelt, asociando las patologías más frecuentes con la formación de complejos antígeno-anticuerpo y la incompatibilidad sanguínea.

En el Hospital Roosevelt se realizaron en el último año (2011), 94 transfusiones de algún tipo de hemocomponente al día, con una producción mensual de 1,838 unidades, realizándose 20,953 solicitudes de transfusión en los últimos 5 años, encontrando mensualmente 60 casos de pacientes con alguna prueba de coombs positiva (directa-indirecta). En el tiempo de estudio 2010-2011 se documentaron a 55 pacientes, con ambas pruebas de coombs positivas, siendo más frecuentes las formaciones de los complejos antígeno-anticuerpo a los de tipo Anti-Rh, Anti-Kell y Anti-Lutherand; que se encontraron asociados a patologías de tipo inmunológico o hematológico; siendo los más afectados los pacientes mayores de 40 años, con historia de haber presentado algún tipo de antecedente patológico.

Con el siguiente estudio se considera la importancia de conocer sobre la patología de los pacientes para poder asociar su carga inmunológica, antes de sobre inmunosensibilizarlos por medio de transfusiones sanguíneas innecesarias, pudiendo dar alternativas de tratamiento y así evitar reacciones transfusionales mediatas y tardías.

II. ANTECEDENTES

Hace un siglo, Landsteiner descubrió el grupo sanguíneo ABO, evento trascendental para el desarrollo de la transfusiología moderna. Hasta ese entonces, los intentos de transfusión de sangre alogénica fueron desafortunados, debido a que ocurren reacciones severas que generalmente terminaban con la muerte del paciente.¹ La reacción transfusional hemolítica aguda (RTHA) se conoce desde las primeras prácticas.^{6, 11}

En 1895, el francés Bordet descubre que los glóbulos rojos de una especie animal se aglutinan en presencia del suero de otra especie; se trata de la heteroaglutinación, que prelude el descubrimiento que realiza el austriaco Karl Landsteiner, en 1900, del mismo fenómeno entre glóbulos rojos y suero de una misma especie: la isoaglutinación. Recomienda el experimento con la sangre de sus colaboradores y lleva a cabo el descubrimiento fundamental de la presencia de sustancias en los glóbulos rojos de un tipo de sangre, que denomina aglutinógenos, que, al encontrar en otro tipo de sangre, otras sustancias igualmente específicas, que denomina aglutininas, provocan la aglutinación fatal. Encontró aglutinógenos de dos tipos, a los que llamó A y B, y las aglutininas correspondientes, a las que denominó, α y β . La presencia de éstas por fin explica las incompatibilidades sanguíneas.¹⁷

No obstante, Landsteiner, que emigra a EE UU descubre en 1927, con la colaboración de Levine, dos grupos secundarios: MN y P. Posteriormente, los americanos Kell, Duffy, Lutheran y Lewis descubrirán varios más.¹⁷

Además de la clasificación de Landsteiner, que aporta seis combinaciones posibles (el grupo O se considera donante universal), se distinguen las de Duffy, Kidd, Cellano, Lutheran... que aportan muchas más combinaciones (489.888 en la de Kidd).¹⁷

Desde entonces fue posible realizar transfusiones sanguíneas sin riesgos, lo que redujo enormemente la mortalidad de las operaciones y la debida a los accidentes, y nació la industria del almacenamiento de sangre.¹⁷

La existencia de anticuerpos (Ac) en el plasma del receptor contra antígenos (Ag) presentes en los eritrocitos transfundidos, desencadena la reacción, que con la formación del complejo Ag-Ac, dispara la respuesta fisiopatológica que involucra a múltiples sistemas enzimáticos, los cuales determinarán la extensión y severidad de los daños orgánicos.^{6, 11}

La mayoría de las reacciones hemolíticas fatales y de las reacciones peligrosas que causan morbilidad importante, resultan de la transfusión de eritrocitos incompatibles para el sistema ABO. Otros Ac como los dirigidos contra los sistemas Rh, Kell, Duffy o Kidd son capaces de causar la RTHA, pero rara vez sus resultados son catastróficos.⁶

En el feto los antígenos Duffy pueden ser detectados a las 6 ó 7 semanas de gestación y están bien desarrollados al nacimiento. A pesar de su temprana expresión, la enfermedad hemolítica por incompatibilidad de grupo sanguíneo Duffy no es usual. Aunque la incompatibilidad por este sistema de grupo sanguíneo suele ser moderada, se debe estar alerta ante la ocurrencia de un conflicto con curso inusual, para brindar un tratamiento óptimo en el momento adecuado y disminuir la morbilidad de esta enfermedad.⁸

El grupo sanguíneo Duffy (Fy) fue descrito por primera vez en el año 1950 por Cutbush y colaboradores, al demostrar la reactividad del suero de un paciente hemofílico politransfundido, cuyo nombre era Duffy, al primer antígeno descubierto se le llamó Fy^a.¹ El antígeno Fy^b fue encontrado un año más tarde.² En 1975, fue identificado el antígeno Fy como el receptor del parásito del paludismo *Plasmodium vivax*. Este descubrimiento dio explicación a la alta frecuencia del fenotipo Fy (a-b-) en personas de raza negra descendientes del oeste de África, como un mecanismo de resistencia al Paludismo.³ Los antígenos Fy^a y Fy^b son codificados por genes alélicos, el FYA y FYB, que da lugar a los 3 fenotipos sanguíneos más frecuentes: Fy (a+b-), Fy (a-b+), Fy (a+b+).^{4,5} Estos antígenos son considerados también como antígenos menores de histocompatibilidad.⁶

En el feto los antígenos Fy pueden ser detectados a las 6 ó 7 semanas de gestación y están bien desarrollados al nacimiento. A pesar de su temprana expresión la enfermedad hemolítica por incompatibilidad de grupo sanguíneo Fy no es usual y puede no ser rutinariamente prevenida.^{3,7} Esto se debe a la inmunogenicidad moderada de los antígenos Fy.⁸

El Rhesus

En los años 1939-40, Landsteiner, asociado con Wiener, completa el descubrimiento fundamental de los grupos sanguíneos con otro de la misma categoría: en el 85 % de las personas de raza blanca, los glóbulos rojos se aglutinan con suero de conejo inmunizado contra los hematíes del mono *Macacus rhesus*, lo que indica que en ciertos glóbulos rojos hay un antígeno idéntico al del Rhesus.²⁴

De ahí que se estableciera un factor hasta entonces desconocido, llamado justamente Rhesus. Al año siguiente, su antiguo colaborador Levine demuestra que el factor Rhesus explica la enfermedad hemolítica de los recién nacidos, que se debe a una incompatibilidad del factor Rhesus entre la sangre de la madre y la del feto.¹⁷

Mecanismos Inmuno hemolíticos

En las RTHA están presentes 2 tipos de hemólisis: intravascular y extravascular. Una de éstas suele predominar, lo que está en relación con el tipo de inmunoglobulina, la concentración de Ac y el estado del sistema inmunológico.⁶

En las reacciones mediadas por IgM predomina la hemólisis intravascular, debido a la capacidad de estos Ac para activar el complemento hasta la formación del complejo de ataque a la membrana (C5-9).^{4,5} La destrucción de los eritrocitos ocurre directamente en el torrente circulatorio, lo que determina la presencia de hemoglobinemia y hemoglobinuria. Una proporción pequeña de células no son lisadas por este mecanismo debido a la acción protectora de las proteínas reguladoras del complemento presentes en el plasma y de las proteínas inhibitorias de la membrana celular o porque moléculas de IgG se unen a los Ag. Estas células son capturadas por el sistema mononuclear fagocítico a través de los receptores para la fracción Fc de las inmunoglobulinas G y del componente C3b del complemento, lo que permite su fagocitosis o su destrucción por citotoxicidad celular dependiente de Ac.^{5,6} La incompatibilidad ABO es el ejemplo clásico de esta reacción.⁶

Cuando los aloanticuerpos son de clase IgG predomina la hemólisis extravascular, ya que estos no activan el complemento o solo lo hacen parcialmente hasta C3.

La destrucción de los eritrocitos recubiertos por inmunoglobulinas y componentes del complemento ocurre en el hígado y el bazo, después de ser capturados por monocitos y

macrófagos a través de sus receptores para la fracción Fc de la IgG y del componente C3b del complemento. Es por eso que no suele acompañarse de hemoglobinemia ni hemoglobinuria, sino más bien de aumento de la bilirrubina indirecta. Una proporción de células sufren hemólisis por el mecanismo de citotoxicidad celular dependiente de Ac. Ejemplos de estos Ac son los dirigidos contra los sistemas Rh, Kell, Duffy y Kidd.⁶

FACTORES MODULADORES DE LAS RTHA2

La transfusión de eritrocitos incompatibles desencadena la reacción Ac-Ag. Sin embargo, la magnitud de ésta difiere de un paciente a otro, lo que está determinado por la existencia de una serie de factores que afectan la intensidad de la reacción, entre los cuales tenemos:

1. Clase y sub-clase de Ac.
2. Capacidad de activar al sistema de complemento.
3. Concentración plasmática, afinidad y especificidad del Ac.
4. Densidad y movilidad de los Ag eritrocitarios.
5. Actividad de los macrófagos del sistema reticuloendotelial.
6. Sensibilidad de la membrana eritrocitaria al sistema de complemento.
7. Cantidad de sangre incompatible transfundida.
8. Condición clínica del paciente.
9. Amplitud térmica del Ac.
10. Localización de la hemólisis: intravascular o extravascular.⁸

PAPEL DE LAS CITOCINAS Y MEDIADORES INFLAMATORIOS EN LA RTHA

Las citocinas constituyen una gran variedad de proteínas hormonas que están involucradas en la comunicación celular. Actualmente, su papel en la fisiopatología de la RTHA es considerado trascendental.⁶

Citocinas pro-inflamatorias

- **Interleucina 1(IL-1):**

Producida por células del sistema mononuclear fagocítico. Tiene un potente efecto pirógeno, el cual es mediado por la acción de la prostaglandina E2 sobre el hipotálamo. Sus efectos sistémicos son importantes: estimula la hematopoyesis y la movilización de neutrófilos de la médula ósea; en concentraciones suficientes, es capaz de producir colapso vascular, shock y muerte; activa las células B y T; induce la expresión de genes de: factor de necrosis tumoral α , interleucina 8 (IL-8), la proteína 1 quimiotáctica para los monocitos (MCP), interleucina 6 (IL-6), antagonista del receptor de la IL-1(IL-1ra), proteínas del complemento, moléculas de adhesión (ICAM-1, ELAM-1), endotelina y factor tisular.^{6, 9, 10}

- **Factor de necrosis tumoral α (FNT α):**

Citocina multifuncional producida por los monocitos y macrófagos. Tiene un potente efecto pro-inflamatorio sinérgico con la IL-1. Su acción sobre las células endoteliales estimula la liberación de diversos mediadores: IL-8, MCP, prostaglandinas, óxido nítrico, IL 6 y factor tisular,⁹ los cuales aparecen vinculados con los efectos fisiopatológicos que se presentan durante la reacción hemolítica: aumento de la permeabilidad vascular, vasodilatación y activación de los sistemas extrínsecos y alternativos de la coagulación.^{3,4,10} Estimula además la desgranulación de los neutrófilos, la expresión en las células endoteliales de moléculas de adhesión para los neutrófilos y monocitos (ICAM-1, ELAM) y produce fiebre mediada por el hipotálamo.^{6, 15}

El FNT α suprime la transcripción del gen de la trombomodulina y promueve su internalización por la célula endotelial. También desregula la síntesis de proteína S por dichas células, factores que contribuyen a la pérdida de la propiedad anticoagulante del sistema proteína C-proteína S.^{7, 6, 15}

Disminuye la actividad fibrinolítica porque estimula la producción y la liberación del inhibidor del activador tisular del plasminógeno tipo 1(PAI-1).^{6, 25}

Su acción sobre el activador tisular del plasminógeno (t-PA) es contradictoria. Según lo apreciado en modelos experimentales, al inicio ocurre un aumento transitorio, que se cree es debido a la liberación de los gránulos preformados en las células endoteliales; sin

embargo, posteriormente produce un descenso mantenido de los niveles de t-PA.¹² Esto contribuye a la reducción de la actividad fibrinolítica.^{6, 15}

- **IL-6:**

Producida por células del sistema mononuclear fagocítico. Estimula la proliferación y diferenciación de los linfocitos B, lo cual favorece la producción de autoanticuerpos y aloanticuerpos. Activación de los linfocitos T. Responsable de la síntesis de proteínas de fase aguda: fibrinógeno, complemento y proteína C reactiva.^{6, 10}

- **Quimocinas:**

Son producidas por células del sistema mononuclear fagocítico, con propiedades inflamatorias, pero tienen un rango más restringido de células diana.⁶

- **IL-8:**

Tiene acción quimiotáctica sobre los neutrófilos e induce su activación, desgranulación y altera la adhesión de las moléculas de superficie. Acción quimiotáctica sobre los linfocitos. Induce la liberación de histamina por los basófilos.⁶

- **MCP-1:**

Tiene acción quimiotáctica sobre los monocitos e induce la producción de IL-1 e IL-6.⁶

Citocinas antiinflamatorias

- **Receptor antagonista de la IL-1(IL-1ra):**

Producida por células del sistema mononuclear fagocítico. Es antagonista competitivo de la IL-1. El balance entre la IL-1 y el IL-1ra determina la variabilidad clínica de las reacciones hemolíticas mediadas por IgG.^{6, 10}

CITOCINAS EN LA HEMÓLISIS INTRAVASCULAR POR INCOMPATIBILIDAD ABO:

La infusión de células ABO incompatibles inducen la expresión de los genes de FNT a y de IL-1. Los niveles de FNTa alcanzan cifras máximas de 2-4 horas después de la infusión de los eritrocitos incompatibles, para luego disminuir progresivamente, sin embargo, la actividad de la IL-1 en plasma es mínima, lo cual se cree que es debido a que se encuentra asociada con células o con una proteína transportadora, o a la presencia de una sustancia que causa interferencia.^{8,10} La IL-8 y la MCP se secretan después de 4-6 horas y alcanzan niveles máximos a las 24 horas.^{6, 24}

La producción de citocinas en respuesta a la incompatibilidad ABO, requiere de un factor plasmático lábil al calor, posiblemente el complemento activado⁸

Citocinas en la hemólisis mediada por Ac IgG:

En las citocinas se aprecian 2 categorías de respuesta:

- Altos niveles de respuesta: IL-8, MCP, IL-1ra.
- Bajos niveles de respuesta: FNT a, IL-1 e IL-6.

No se aprecia aumento significativo en el FNTa hasta después de las 6 horas de transfundida la sangre incompatible. La IL-1 y la IL-6 quizás promuevan la producción de aloanticuerpos y autoanticuerpos. La activación del gen de la IL-1ra ocurre posteriormente, pero independiente de la IL-1. La variabilidad de la reacción mediada por IgG, puede estar en relación con el balance IL-1-IL-1ra. La IL-8 y la MCP son producidas de manera progresiva.^{6, 11, 24}

Estas citocinas y mediadores están presentes tanto en las hemólisis intravasculares como en las extravasculares. Pero en la primera, estas sustancias son liberadas hacia la circulación sistémica y ejercen su acción sobre muchos tipos celulares, mientras que en la segunda, su acción queda circunscrita al sitio de eritrofagocitosis, fundamentalmente el ámbito esplénico; de ahí la menor intensidad de sus efectos sistémicos.⁶

MEDIADORES INFLAMATORIOS

- **Factor de Hageman:**

Es activado por el complejo Ag-Ac y actúa como disparador de varios sistemas de amplificación asociados con las reacciones inmunológicas:^{3,19}

- La fibrinólisis, a través del activador tisular del plasminógeno.
- El sistema calicreína-bradicinina.
- La coagulación, al activar la vía intrínseca.

El papel del factor de Hageman como activador de la vía intrínseca en la coagulación intravascular diseminada (CID) ha sido discutido, y después de múltiples experimentos, existe el consenso de que su contribución a la activación de la coagulación es pobre y su efecto principal en la reacción hemolítica es sobre estado hemodinámico, ya que estimula la producción de bradicinina, la cual, directa o indirectamente causa vasodilatación por la generación de óxido nítrico y prostaciclina⁶

- **Anafilotoxinas C 3a y C 5a:**

Generadas a partir de la activación del complemento. Activan a los mastocitos, neutrófilos y células mononucleares, en los cuales se produce:

- La expresión del receptor (R) C3b.3,19
- Liberación de los gránulos que contienen histamina, prostaglandinas y leucotrienos, responsables de vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular y finalmente, de la hipotensión que se desarrolla durante la reacción.
- Ocurre el estallido respiratorio oxidante con la generación de anión superóxido, peróxido de hidrógeno, O₂ libre y radicales hidroxilo, todos ellos potentes agentes de destrucción celular.
- Producción de mediadores solubles de células mononucleares: FNT, IL-8, PGs, factores activadores de la quimiotaxis y activación de los neutrófilos.^{6, 25}

- **Endotelina 1:**

Es una sustancia vasoactiva producida por las células endoteliales vasculares. Su liberación es inducida por: trombina, bradicinina, epinefrina e interleucina 1. Es un poderoso agente vasoconstrictor. En la RTHA se considera uno de los agentes causantes de la isquemia a los tejidos.^{3, 4}

RINCIPALES EVENTOS FISIOPATOLÓGICOS

- **Hipotensión inicial:**

Evento trascendental por lo que significa directamente sobre el estado clínico del paciente y por las respuestas fisiopatológicas que se generan. En su génesis se han involucrado varios sistemas: el complemento con la generación de anafilotoxinas C 3a –C 5a y su acción en la liberación de histamina, el sistema calicreína-bradicina activado por el factor de Hageman y la secreción de óxido nítrico por las células endoteliales estimulada por el FNT a y la IL-1.⁶

- **Coagulación intravascular diseminada (CID):**

La CID iniciada como consecuencia de la reacción Ag-Ac puede causar formación de trombos en la microcirculación, consumo de factores de la coagulación y plaquetas, activación del sistema fibrinolítico, generación de productos de degradación del fibrinógeno y hemorragia incontrolada.⁶

La reacción Ag-Ac y la hemólisis activan varios sistemas enzimáticos que intervienen en la génesis de esta coagulopatía. Se destacan: la secreción del factor tisular generado a partir de las células endoteliales y por la desgranulación de los neutrófilos;^{12,21} la activación del factor de Hageman y su acción sobre la fibrinólisis (su papel en la activación de la coagulación es considerado secundario, como ya se señaló);^{12,21} la generación de plasmina por la acción de la trombina; la supresión de la fibrinólisis por la acción del FNT a y la IL-1, los cuales producen: disminución de los niveles de t-PA y aumento del PAI-1 y la pérdida de la actividad anticoagulante de la proteína C como consecuencia de la acción del FNT a, que reduce la expresión de la trombomodulina por las células endoteliales y disminuye la síntesis

de proteína S. Esta última también se ve afectada por el aumento de su inhibidor natural C4bBP que se comporta como un reactante de fase aguda.⁶

Otros elementos que promueven la CID son: la actividad pro-coagulante de los fosfolípidos de estromas eritrocitarios derivados de la hemólisis, la activación plaquetaria por la liberación de ADP intraeritrocitario, la liberación de materiales tromboplásticos por leucocitos y plaquetas, y la disminución del óxido nítrico neutralizado por la hemoglobina libre, con afectación de la tromborresistencia⁶

Todos estos cambios originan un desbalance coagulación-fibrinólisis, que determinan un estado pro-coagulante varias horas después de ocurrida la reacción hemolítica. Este desbalance contribuye al desarrollo de la disfunción y el fallo de órganos.⁶

- **Fallo renal:**

Su aparición y gravedad determina en gran medida la morbimortalidad de la RTHA. De esto se deriva la gran importancia de su prevención al más leve signo. En su etiología aparecen asociados varios mecanismos como es la hipotensión inicial que origina isquemia tisular y desencadena la respuesta neuroendocrina, caracterizada por la estimulación del sistema nervioso simpático con secreción de noradrenalina y otras catecolaminas, las cuales provocan vasoconstricción en las áreas con alta concentración de receptores adrenérgicos (como el riñón) y manteniendo el cuadro de isquemia. Esta acción vasoconstrictora se ve perpetuada por la producción de endotelina por las células endoteliales estimuladas por catecolaminas, trombina, FNT a, IL-1 y otros mediadores, y por la pérdida de la acción vasodilatadora del óxido nítrico tras su neutralización por la hemoglobina libre. Otro elemento que contribuye a la disminución del flujo renal es el depósito intravascular de estroma eritrocitario y de microtrombos.⁶

La hemólisis intravascular tiene efectos fisiopatológicos sistémicos, y aunque el riñón suele ser el órgano más afectado, cualquier otro órgano puede sufrir el daño de la CID, de la hipotensión y de la isquemia. La acción sobre el sistema respiratorio puede conducir al síndrome de distrés respiratorio del adulto.⁶

- **Manifestaciones clínicas**

Las manifestaciones de la RTHA son de carácter variable, lo cual depende del Ag involucrado y de las características del Ac (isótopo y concentración) y del estado clínico del paciente.⁶

En la incompatibilidad ABO los síntomas comienzan a los pocos minutos de iniciado el acto transfusional con sensación de calor en el punto de la flebotomía, enrojecimiento facial, fiebre, escalofríos, inquietud, dolor lumbar y/o abdominal, opresión subesternal acompañada de disnea, náuseas, sudoración, coluria, pérdida de sangre excesiva por las heridas, taquicardia, hipotensión, shock o hipertensión.^{6, 11}

Los pacientes con hemólisis extravascular tienen antecedentes transfusionales y/o de embarazos. El cuadro puede ser poco manifiesto o presentar fiebre, escalofríos, malestar general e ictericia franca o subclínica.^{6, 15}

PROCEDIMIENTOS PARA LA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS ERITROCITARIOS

Los requerimientos transfusionales de la mayoría de los pacientes que necesitan de una transfusión sanguínea, se cumplen al administrar sangre de donantes de igual fenotipo ABO y RhD que la del paciente. Numerosos antígenos de grupos sanguíneos diferentes al A, B y RhD son ignorados en el acto transfusional, debido a que muy pocas personas poseen anticuerpos dirigidos contra alguno de ellos.²¹

Del 0,5 al 1,5 % de los pacientes presentan anticuerpos resultantes de la exposición a células extrañas que ingresaron al organismo por vía transfusión o embarazo. Estos anticuerpos eritrocitarios se pueden detectar e identificar por diferentes procedimientos, sin embargo, existen factores que afectan la reacción entre el anticuerpo y el antígeno, los factores pueden estar asociados con el antígeno, con el anticuerpo y con las condiciones de la reacción.²¹

Los factores relacionados con el antígeno incluyen el número de sitios antigénicos, las interacciones génicas, la dosis, el sitio que ocupa el antígeno sobre la superficie eritrocitaria,

la edad de las células y las condiciones de almacenaje de éstas. Entre los factores relacionados con el anticuerpo se encuentran la capacidad para fijar el complemento, la influencia que sobre la reacción tienen el uso de suero o plasma, el fenómeno de rouleaux y la contaminación bacteriana.²¹

Las condiciones de la reacción incluyen el pH, la relación entre la concentración de antígeno y anticuerpo, la temperatura, el tiempo de incubación, la centrifugación, la fuerza iónica y por último, el tipo de medio, es decir, si para la reacción se utiliza un medio salino, albuminoideo, enzimático o se usa el reactivo antiglobulínico.²¹

REACCIÓN ANTÍGENO-ANTICUERPO EN INMUNOHEMATOLOGÍA

La alteración antígeno-anticuerpo puede verse en diferentes contextos; uno de estos es la reacción de aglutinación de los eritrocitos, que se discutirá a continuación, pues es el fenómeno que por lo general ocurre en la mayoría de las técnicas que se realizan en Inmunohematología.²¹

Existen dos requisitos para que la reacción antígeno-anticuerpo se produzca: el primero es la adecuada complementariedad de encaje, podrán unirse a los anticuerpos sólo aquellos antígenos con determinantes antigénicos que se ajusten al sitio de combinación del anticuerpo. El segundo requisito es la complementariedad de carga, las cargas opuestas de antígenos y anticuerpos crean fuerzas de atracción, mientras que cargas iguales crean fuerzas de repulsión.²¹

Una vez que se forma el complejo antígeno-anticuerpo, las fuerzas que lo mantienen unido no son interacciones covalentes, son interacciones interatómicas débiles que mantienen al antígeno y al anticuerpo en un contacto muy cercano, capaz de desarrollar fuerzas que estabilizan la unión del complejo como las interacciones iónicas, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals e interacciones hidrofóbicas.²¹

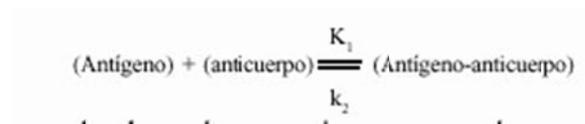
Los anticuerpos aglutinan a los eritrocitos en 2 etapas: en la primera el anticuerpo se une físicamente al antígeno en los eritrocitos (sensibilización), en la segunda los eritrocitos, a los cuales los anticuerpos se unieron, aglutinan formando puentes entre ellos para crear una estructura de enrejado que constituye la aglutinación. En algunas reacciones antígeno-

anticuerpo las 2 etapas ocurren casi simultáneamente, mientras que en otras sólo ocurre la primera etapa de la reacción, es decir, hay sensibilización de los eritrocitos por anticuerpos no aglutinantes.^{3, 21}

Para analizar la reacción de aglutinación es conveniente separarla en sus 2 etapas, ya que existen factores y variables que afectan a cada una.²¹

Primera etapa de la reacción de aglutinación

La asociación y disociación del complejo antígeno-anticuerpo se rige por la ley de acción de masas, ésta es una reacción reversible:



Donde antígeno-anticuerpo y antígeno-anticuerpo son las concentraciones del antígeno, anticuerpo y complejo antígeno-anticuerpo respectivamente, k1 es la constante de asociación y k2 la de disociación. De acuerdo con la ley de acción de masas:²¹

$$\frac{(\text{Antígeno-anticuerpo})}{(\text{Antígeno+anticuerpo})} = \frac{k_1}{k_2} = K$$

K es la constante de equilibrio o afinidad de la reacción y refleja la fuerza de unión entre el antígeno y el anticuerpo. Mientras mayor sea K la velocidad de asociación de la reacción será mayor, es decir, serán mayores las cantidades que se formarán del complejo antígeno-anticuerpo y la velocidad de disociación será más lenta.²¹

La constante de equilibrio K en la reacción de aglutinación se afecta por las concentraciones de antígeno y anticuerpo, y por condiciones físicas de las técnicas tales como pH, temperatura, fuerza iónica y tiempo de incubación. La alteración de estas últimas condiciones puede producir aumento o disminución de la sensibilidad en la aglutinación.²¹

Concentración de antígeno y anticuerpo: es la velocidad de formación del complejo antígeno-anticuerpo varía con el número de moléculas de anticuerpo presentes en el medio y con el número de sitios antigénicos presentes en cada célula.

Al aumentar la cantidad de anticuerpos en el medio puede aumentar la sensibilidad de la prueba, asimismo, al aumentar la proporción suero/eritrocitos se proveen más anticuerpos por zonas antigénicas²¹

- **PH:** el pH óptimo para los anticuerpos de la mayoría de los sistemas de grupos sanguíneos aún no ha sido determinado. Anticuerpos como los anti-M reaccionan mejor a pH bajo, y para los anti-D se reporta el pH óptimo entre 6,5 y 7,0. En la práctica las técnicas de rutina deben trabajarse a un pH alrededor de 7,0.²¹
- **Temperatura:** la mayoría de los anticuerpos de grupos sanguíneos reaccionan en un rango restringido de temperatura. Por ejemplo, los anti-P reaccionan ópticamente a 18 °C y los anti-Fya a 37 °C. Los anticuerpos de la clase IgM son más reactivos a bajas temperaturas (4-27 °C), mientras que los de la clase IgG lo son a 37 °C. Por este motivo, las técnicas de detección de anticuerpos abarcan gamas de temperaturas de 22-37 °C ó 30-37 °C.⁷⁻²¹

Aquellos anticuerpos que reaccionan in vitro a temperaturas por debajo de 37 °C, no se consideran clínicamente significativos y rara vez destruyen eritrocitos transfundidos. Algunos anticuerpos de la clase IgM pueden activar el complemento a temperaturas por debajo de 30 °C, pero sólo acortan de forma mínima la supervivencia de eritrocitos incompatibles transfundidos. Los anticuerpos clínicamente significativos son aquellos que tienen actividad in vivo que se manifiesta in vitro al reaccionar a 37 °C.²¹

- **Fuerza iónica:** en una solución salina normal los iones Na⁺ y Cl⁻ se agrupan alrededor de las moléculas de antígeno y anticuerpo, y neutralizan parcialmente sus cargas opuestas. Este recubrimiento dificulta la unión del anticuerpo con el antígeno y se reduce al disminuir la fuerza iónica del medio donde tiene lugar la reacción, por lo general cuando la concentración salina del medio de reacción disminuye, la velocidad de captación del anticuerpo aumenta.^{3,21}
- **Tiempo de incubación:** los anticuerpos de los diversos grupos sanguíneos tienen diferentes tiempos para alcanzar el equilibrio, en esto interviene de manera significativa la clase de inmunoglobulina y la forma en que se une con antígeno específico.^{7, 21}

Estudios con eritrocitos suspendidos en suero o solución salina han demostrado que del 100 % de anticuerpos RhD que se fijan, aproximadamente el 25 % lo hace en los primeros 15

minutos y el 75 % restante lo hace durante la primera hora. La adición de varios agentes potenciadores, por ejemplo disminución de la fuerza iónica, puede aumentar la cantidad de anticuerpos fijados durante los primeros 15 minutos, y con esto disminuir el tiempo de incubación necesario para alcanzar el equilibrio.²¹

Segunda etapa de la reacción de aglutinación

Una vez que la reacción antígeno-anticuerpo ha ocurrido, la aglutinación puede o no producirse. Algunos factores permiten la aglutinación, otros la impiden, tales como: características del anticuerpo, localización y número de sitios antigénicos, fuerzas que mantienen la distancia entre los eritrocitos, uso de albúmina sérica bovina, uso de enzimas, efecto de dosis y efecto de moléculas con carga positiva.^{5,21}

Característica del anticuerpo: Dos de las características de los anticuerpos que deben considerarse son el tamaño y el número de sitios de combinación con el antígeno, ya que entre los anticuerpos de las clases IgG e IgM existen considerables diferencias físicas.²¹

Los anticuerpos IgM pueden establecer puentes entre los eritrocitos y aglutinarlos aún suspendidos en solución salina, mientras que los anticuerpos IgG no. Esto es posible porque las moléculas de IgM son circulares y poseen 10 sitios de combinación con el antígeno, separados a una distancia de 300 Å; la distancia que separa a 2 células normales es 184 Å y estos anticuerpos para provocar la aglutinación de las mismas pueden combinar 2 ó 3 de sus sitios con una, y el resto de los sitios con otra.²¹

Las moléculas de IgG, a diferencia de las IgM, poseen sólo 2 sitios de combinación con el antígeno y estos están separados a una distancia de 140 Å, por lo tanto, para aglutinar 2 células sólo dispone de un sitio de combinación para cada una, estos a su vez se encuentran más cercanos uno del otro que los sitios de la IgM.^{11, 21}

Localización y número de sitios antigénicos: los reactivos hemoclasificadores anti-A y anti-B de tipo IgG regularmente aglutinan eritrocitos de estos fenotipos suspendidos en solución salina. Una posible explicación para este fenómeno es la localización y número de los antígenos del sistema de grupos sanguíneos ABO. Existe gran cantidad de sitios antigénicos A y B en los eritrocitos, comparado con el número de sitios de otros antígenos, además los antígenos A y B están localizados en los glicolípidos y zonas sobresalientes de

la superficie de la membrana. Otros antígenos como el RhD son proteínas localizadas en la propia membrana eritrocitaria.^{21,24}

Fuerzas que mantienen la distancia entre los eritrocitos: como se analizó anteriormente, los eritrocitos sensibilizados con anticuerpos de la clase IgM pueden crear la estructura de enrejado en la segunda etapa de la reacción de aglutinación, porque los anticuerpos de esta clase son capaces de cubrir la distancia que separa a los eritrocitos entre sí por la repulsión de cargas iguales.^{11,21}

De forma contraria, los anticuerpos de la clase IgG son generalmente sensibilizantes, pero no aglutinantes. El ser moléculas de pequeño tamaño y con 2 sitios de combinación con el antígeno, les imposibilita vencer la distancia que existe entre los eritrocitos y aglutinarlos. Los eritrocitos tienen una carga neta negativa en su superficie, su interacción con los iones del medio en que están suspendidos altera esa carga y producen una carga neta denominada potencial zeta, de ahí que la distancia que separa a los eritrocitos es proporcional al potencial zeta y la disminución de esta hace que los eritrocitos se aproximen y puedan ser aglutinados por anticuerpos de esta clase.^{9, 10, 11, 21}

Uso de albúmina sérica bovina: los anticuerpos que no aglutinan eritrocitos suspendidos en solución salina, en ocasiones, los aglutinan cuando están suspendidos en albúmina bovina, esto es posible porque la albúmina provoca un incremento en la constante dieléctrica del medio en el que están suspendidos los eritrocitos y una disminución del potencial zeta. La constante dieléctrica de un medio es una medida de su habilidad para disipar cargas.^{9,10,11,21}

No todos los anticuerpos de los grupos sanguíneos aumentan su actividad en las pruebas de albúmina. Los anti-A, anti-B y anti-Lewis muestran reducción de su actividad en presencia de albúmina; este influye en el grado de hidratación de la membrana, lo cual puede alterar la orientación estérica del determinante antigénico o puede disminuir la entropía disponible para dirigir la reacción.^{10,21}

Uso de enzimas: enzimas proteasas como la bromelina, tripsina, papaína y ficina se utilizan en las pruebas serológicas porque reducen la carga de la superficie de los eritrocitos al hidrolizar las sialoglicoproteínas de la superficie celular. La neuraminidasa también reduce la

carga de la superficie celular porque escinde moléculas de ácido siálico N-acetilneuramínico (NeuNAc) de las cadenas de polisacáridos.²¹

Cualquier mecanismo que elimine las cargas negativas de los eritrocitos reducirá la distancia que los separa al disminuir el potencial zeta y así facilitar su aglutinación por parte de anticuerpos de la clase IgG. Se conoce que este proceder puede disminuir la distancia entre células de 184 Å a 113 Å en eritrocitos tratados con papaína, y a 111 Å cuando son tratados con neuraminidasa.¹ El tratamiento enzimático de eritrocitos también incrementa la accesibilidad de algunos antígenos cuando las glicoproteínas son eliminadas.²¹

Los eritrocitos pretratados con neuraminidasa aumentan su aglutinación por efecto de moléculas de IgG, pero este aumento no es comparable al producido por otras enzimas.²¹

Además de estas acciones, las enzimas proteolíticas eliminan zonas antigénicas de otros anticuerpos como anti-M, -N, -S17, -Fya y -Fyb.^{1,5} Esta propiedad de las enzimas proteolíticas son de gran utilidad en la identificación de anticuerpos eritrocitarios.²¹

Efecto de dosis: el efecto de dosis es una vía por la que algunos antígenos pueden afectar la fuerza de la reacción antígeno-anticuerpo. Algunos anticuerpos muestran diferencias en la fuerza de sus reacciones, en dependencia de la cantidad de antígeno presente en las células. A veces estas cantidades son proporcionales al genotipo del individuo, por ejemplo, los eritrocitos M⁺ de un individuo de genotipo MM contienen más antígeno M que los eritrocitos M⁺ de un individuo de genotipo MN.^{10,21}

Efecto de moléculas con carga positiva: el Polibreno es un polímero de carga positiva, provoca agregación espontánea de eritrocitos normales al neutralizar su carga superficial negativa producida por el ácido siálico. Las células carentes de NeuNAc, por ejemplo, las células poliaglutinables T ó Tn y las tratadas con proteasa, no se agregan en presencia de Polibreno□, lo cual ofrece información adicional sobre las características físicas de la reacción de aglutinación.^{11,21}

DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS ERITROCITARIOS

El pesquisaje de anticuerpos eritrocitarios tiene como objetivo detectar y luego identificar anticuerpos clínicamente significativos, que puedan causar reacción transfusional y acortamiento de la sobrevivencia normal de los eritrocitos, de modo que deben emplearse métodos *in vitro* apropiados.²¹

Usualmente se emplean múltiples técnicas para la detección de anticuerpos eritrocitarios, una de ellas es el tratamiento enzimático de los eritrocitos con proteasas. Esta técnica es mucho más sensible que otras en las que no se utilizan eritrocitos pretratados enzimáticamente, especialmente en la detección de anticuerpos Rh y otros anticuerpos que sólo reaccionan ante eritrocitos pretratados.²¹

A pesar de las ventajas que brinda el uso de enzimas proteolíticas, es importante alertar en relación con su uso como rutina en la detección de anticuerpos eritrocitarios. Los eritrocitos pretratados con enzimas pueden detectar anticuerpos fríos y otros anticuerpos que no son clínicamente significativos, además existe muy poca correlación entre la presencia pretransfusional de anticuerpos detectables únicamente por métodos enzimáticos, y el desarrollo de anticuerpos demostrables por otros métodos, días o semanas después de la transfusión.²¹

Dos de las técnicas que deben emplearse como rutina en la evaluación de anticuerpos eritrocitarios son: el método del polibreno y el de LISS (del inglés low ionic strength solution, solución de baja fuerza iónica). Estos métodos consumen menos tiempo, dinero y esfuerzo que los métodos enzimáticos.²⁰⁻²³ Es necesario comentar que la técnica del LISS sólo debe realizarse a 37 °C, ya que a temperatura ambiente se pueden detectar anticuerpos que no tienen repercusión clínica.²¹

De forma contraria, el método del polibreno se realiza a temperatura ambiente y tiene como ventaja el detectar predominantemente anticuerpos que son activos a 37 °C por otros métodos. En la técnica de polibreno el tiempo de incubación debe ser el mínimo, para no detectar anticuerpos fríos sin significación clínica.²¹

La prueba de antiglobulina indirecta (PAI) emplea anticuerpos contra las globulinas humanas (AGH) denominado reactivo antiglobulínico poliespecífico (anti-IgG y anti-C3) y eritrocitos suspendidos en solución salina. Esta técnica se realiza en 2 pasos y es la más recomendada para la detección de anticuerpos que sensibilizan eritrocitos que portan su antígeno, pero que no producen aglutinación de las células.²¹

La PAI es un proceder altamente favorecido por la mayoría de los investigadores que se desempeñan en esta especialidad y no sólo es útil para detectar e identificar anticuerpos, sino que también se utiliza para tipificar la sangre y en las pruebas de compatibilidad.²¹

Este proceder se rige por los siguientes principios: 1. Todas las moléculas de anticuerpos son globulinas; 2. Al inyectar un animal con globulinas humanas este genera anticuerpos contra la proteína extraña, luego el suero animal es absorbido para eliminar las aglutininas indeseadas y reacciona específicamente con las globulinas humanas; 3. Los 2 sitios Fab de la molécula AGH se unen a las porciones Fc de 2 anticuerpos sensibilizantes que se encuentran en 2 células adyacentes, esta unión forma un puente entre los eritrocitos y la aglutinación se hace visible;4.

La AGH reacciona con globulinas humanas unidas a eritrocitos o libres en el suero, estas últimas se unen preferentemente con la AGH, la neutralizan y ocasionan un resultado falsamente negativo, por ello los eritrocitos deben lavarse previamente a la adición del reactivo AGH.²¹

A finales de la década de los 80 se desarrolló un nuevo método para el tipaje de grupos sanguíneos y para la detección e identificación de anticuerpos eritrocitarios. La prueba de aglutinación en gel es un método de serología transfusional, donde la reacción entre anticuerpos y antígenos ocurre en el gel Sephadex contenido en los microtubos de una tarjeta plástica, la centrifugación se realiza en una centrífuga no convencional y el gel empleado puede ser neutro, contener reactivo AGH para la PAI o reactivos hemoclasificadores de grupos sanguíneos para tipificar la sangre.²¹

La prueba de aglutinación en gel es negativa si después de la centrifugación los eritrocitos no aglutinados van al fondo del microtubo al pasar fácilmente a través del gel; los eritrocitos aglutinados quedan atrapados en el gel y forman diferentes patrones de aglutinación. Esta técnica es fácil, sensible y reproducible; entre sus ventajas están el uso de eritrocitos no

lavados para la ejecución de la prueba de antiglobulina, requiere pocas cantidades de reactivos, después que la reacción ocurre en el gel esta puede mantenerse sin cambios hasta pasadas 24 horas y los resultados en los microtubos se pueden fotocopiar.²¹

Las pruebas de detección de anticuerpos tienen como objetivo evidenciar la mayor cantidad posible de anticuerpos con significación clínica, para lo cual los eritrocitos que se utilicen deben portar los antígenos, contra los cuales están dirigidos la mayoría de los anticuerpos que se encuentran comúnmente. Para investigar los sueros de los pacientes son suficientes 2 muestras testigo de eritrocitos de donantes de fenotipo seleccionado (tabla 1).²¹

Tabla 1. Fenotipos testigos para la detección de anticuerpos eritrocitarios

		Sistemas de grupos sanguíneos																										
		Rh			M N			Luthe ran		P	Lewis		Kell			Duffy		Kidd		*								
													K	K														
													p	p														
Mues tras		D	C	C	E	c	e	M	N	S	s	L	L	P	L	L	K	k	a	b	J	J	F	F	J	J	X	
				W								u	u	1	a	b	k	k			a	b	a	b	a	b	g	
1		+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+
2		+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+

* Ligado al sexo.

La detección in vitro de la reacción antígeno-anticuerpo en todas las técnicas que se han comentado hasta aquí se evidencia por aglutinación, sin embargo, existen otras formas de detectar esta reacción, por ejemplo las pruebas de inhibición de la aglutinación, en las que se detecta la presencia del antígeno o del anticuerpo cuando la aglutinación previamente observada de un elemento queda inhibida. Otros medios de detección son sencillos, como la hemólisis; otros como el radioinmunoanálisis son más peligrosos, costosos y complejos.²¹

La hemólisis es la ruptura de los eritrocitos con la consiguiente liberación de la hemoglobina intracelular, cuando es mediada por anticuerpos requiere el concurso del complemento y no se produce si el plasma contiene un agente quelante del calcio o magnesio. Si la hemólisis se produce, el sobrenadante se torna color rosa tras la incubación de los anticuerpos con los eritrocitos, resultado que se considera positivo.³ Los anticuerpos anti-Lea pueden provocar la hemólisis de eritrocitos suspendidos en solución salina.²¹

Otra de las técnicas utilizadas para identificar antígenos o anticuerpos es la prueba de adherencia de eritrocitos en fase sólida, que utiliza eritrocitos indicadores. En la prueba directa se recubren las paredes de una microplaca con anticuerpos y se añaden eritrocitos a los pocillos, si tienen el antígeno adecuado se adherirán a los anticuerpos en la pared del pocillo, si no hay reacción antígeno-anticuerpo sedimentan en el fondo del pocillo. En la prueba indirecta se adhieren eritrocitos a los bordes de los pocillos mediante pretratamiento con glutaraldehído, formaldehído o un anticuerpo monoclonal potente, luego se añade suero del paciente y después eritrocitos recubiertos con IgG (células indicadoras). En la reacción positiva los eritrocitos recubiertos se adhieren a las paredes del pocillo, en la negativa los eritrocitos sedimentan en el fondo de los pocillos.²¹

Cuando se detecta un anticuerpo en el suero de un individuo este debe identificarse para conocer su significado clínico, el procedimiento emplea un panel eritrocitario de fenotipo conocido. En dependencia de si las células reaccionan o no con el suero, se podrá reconocer el antígeno contra el cual está dirigido el anticuerpo (tabla 2).²¹

En la tabla 2 se muestra el ejemplo de un suero que reacciona en la PAI con todas las células S+ y no reacciona con la S-. En este caso el suero contiene anticuerpos anti-S y se pueden excluir otras posibilidades, por ejemplo: las células 2, 4 y 10 son D+ y reaccionan con el suero; las células 1,5,6,7 y 8 son D- y no reaccionan con el suero, pero los anticuerpos no pueden ser anti-D porque las células 3 y 9 son D+ y el suero no reacciona con ellas.²¹

Tabla 2. Panel eritrocitario para la identificación de anticuerpos eritrocitarios

Muestras	Rh	MN					Lutheran		P	Lewis		Kell			Duffy		Kidd *			Resultado			
		M	N	S	s	U	Lu a	Lu b	P 1	Le a	Le b	K k	Kp a	Kp b	Js a	Js b	Fy a	Fy b	Jk a	Jk b	Xg a	PAI	
1	CCddee	+	+	0	0	0	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	0	0	0	+	+	0	
2	CcwD _{ee}	0	+	+	+	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	2+	
3	CCDe _e	+	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	
4	ccDE _E	+	0	+	0	0	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	3+
5	ccddE _E	+	0	0	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	
6	ccdde _e	0	+	0	+	0	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	
7	ccdde _e	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	
8	ccdde _e	+	+	0	+	0	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	
9	CCDE _e	+	0	0	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	
10	CcDe _e	+	0	+	0	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	3+	

* Ligado al sexo.

Al investigar, de esta manera, se pueden excluir otros anticuerpos, es decir otras especificidades; otros no pueden ser descartados. En el ejemplo anterior el suero puede presentar anticuerpos anti-Cw tanto como anti-S, porque el suero reacciona con la célula 2 y esta es S+ y Cw; en este particular y en otros similares es necesario el uso de un fenotipo extra S-, Cw +.²¹

Cuando el suero contiene diferentes tipos de anticuerpos se deben utilizar diferentes vías para determinar las especificidades presentes, una de ellas es valorar la fuerza de la aglutinación con cada fenotipo del panel eritrocitario, otra es el tratamiento enzimático de los

eritrocitos para eliminar los sitios antigénicos de los antígenos Fya, Fyb, M, N y S. También se puede usar más de una técnica para identificar varias especificidades si nos basamos en el hecho de que muchos anticuerpos reaccionan por diferentes métodos.²¹

La identificación de anticuerpos contra antígenos de baja o alta incidencia, se rige por los mismos principios detallados anteriormente para otros anticuerpos, pero sólo se requiere el uso de fenotipos raros. Estas células, digamos exóticas, no poseen antígenos de alta incidencia, o por el contrario, portan algunos de estos antígenos raros.²¹

En otras ocasiones los métodos de absorción elución son útiles para la identificación de anticuerpos eritrocitarios, por ejemplo un suero que contiene anti-K producido por un individuo de fenotipo RhD- se debe estudiar para dilucidar la presencia de anticuerpos anti-D, si la muestra de eritrocitos D+, K-es insuficiente para confirmar o excluir la presencia del anti-D, el suero se puede absorber con células D-, K+ repetidamente, cuando se obtiene el suero libre de anti-K+ este se enfrenta a muestras D+ y D-, si el anti-D está presente el anti-K se puede separar de ese anticuerpo por elución de los eritrocitos D-, K+ ad-sorbidos.²¹

DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE AUTOANTICUERPOS EN LOS HEMATÍES DE PACIENTES CON ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE CON PRUEBA DE COOMBS NEGATIVA

Las anemias hemolíticas autoinmunes (AHAI) se caracterizan por la destrucción, mediada por autoanticuerpos, de los eritrocitos del paciente. Los autoanticuerpos causantes del proceso hemolítico se clasifican en calientes y fríos en dependencia de la temperatura óptima de su reacción in vitro.¹ La AHAI más frecuente se debe a la presencia de autoanticuerpos reactivos a 37o C, que constituye el 70 % del total de casos.²

Dada la importancia de las inmunoglobulinas (Igs) en la hemólisis inmune, su detección es un proceder muy empleado en inmunohematología. La prueba de antiglobulina directa (PAD) o prueba de Coombs ha sido utilizada comúnmente para la detección de los autoanticuerpos eritrocitarios. Sin embargo, la PAD tiene limitaciones, ya que existe una cantidad límite de anticuerpos en los hematíes por debajo de la cual la prueba resulta negativa, aunque a estas bajas concentraciones los anticuerpos son capaces de producir hemólisis.²

Existen otros ensayos de mayor sensibilidad que las técnicas de aglutinación que se han aplicado para la detección de los autoanticuerpos eritrocitarios. Dentro de éstos se incluyen el empleo de antiglobulina marcada con radioisótopo y la citometría de flujo. Estos métodos requieren de un equipamiento costoso y en algunos casos, de la utilización de compuestos radioactivos de manipulación riesgosa.²

Los ensayos inmunoenzimáticos son sensibles y rápidos; pueden aplicarse en la investigación de las inmunoproteínas asociadas con los eritrocitos y en la detección de anticuerpos no revelados por las técnicas convencionales. Además de las ventajas ya expuestas, su bajo costo, la no utilización de material radioactivo y la posibilidad de cuantificar autoanticuerpos unidos a estas células, lo señalan como un método a elegir para estos estudios.²

Con la leucemia linfocítica crónica (LLC) se asocian frecuentemente trastornos de la regulación inmune y fenómenos de autoinmunidad, y es la anemia hemolítica autoinmune (AHAI) una de las enfermedades que comúnmente se presenta.¹ La LLC-B se caracteriza por la acumulación de linfocitos B CD5+, los cuales se relacionan con la producción de autoanticuerpos naturales. Se ha planteado también la participación de estas células en la patogénesis de la AHA1 y se ha sugerido una posible relación causal entre las células B CD5+ de ambas enfermedades.² La presencia de autoanticuerpos contra los eritrocitos en algunos pacientes con LLC-B con AHA1 no está esclarecida. Se ha señalado que los anticuerpos expresados por las células B leucémicas CD5+ no se unen directamente con los eritrocitos, lo que indica que estos no están involucrados en su destrucción; se plantea que dichos anticuerpos antieritrocitarios son producidos por células B normales remanentes.³

En diversas investigaciones se ha observado una asociación entre deficiencias de los componentes iniciales de la vía clásica del complemento con enfermedades autoinmunes, lo que sugiere cierta participación del complemento en el mantenimiento de la tolerancia inmune. En trabajos anteriores se han demostrado deficiencias del complemento en pacientes con LLC-B CD5+ en las fases más avanzadas de la enfermedad.³

III. OBJETIVOS

3.1 GENERAL:

- 3.1.1 Determinar cuáles son las patologías más frecuentes asociadas a la formación de antígenos y anticuerpos eritrocitarios, encontrados en pacientes con prueba de Coombs positivo en el Banco de Sangre del Hospital Roosevelt

3.2 ESPECÍFICOS:

- 3.2.1 Identificar cuáles son los anticuerpos más frecuentes encontrados en las pruebas de Coombs positivo asociados a la formación de anticuerpos-antígenos eritrocitarios
- 3.2.2 Analizar qué tipo de patología es la más frecuentes asociada a la incompatibilidad de hemocomponentes

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Tipo de Estudio

Descriptivo, se tomarón a los pacientes que presentaron ambas pruebas de Coombs positiva del banco de sangre para posteriormente poder describir qué patologías fueron las que se encontraron, asociadas a la formación de antígenos y anticuerpos eritrocitarios, en el periodo 2010-2011.

4.2 Población

Pacientes que presentaron ambas pruebas de Coombs positivo en el banco de sangre, del departamento de Patología del Hospital Roosevelt durante el período 2010-2011.

4.3 Sujeto de estudio

Pacientes que presentaron ambas pruebas de Coombs positivas de manera consecutiva.

4.4 Cálculo de la muestra

Se utilizó el total de pacientes notificados en el libro de reportes del banco de sangre del Hospital Roosevelt, que presentaron ambas pruebas de Coombs positivo, durante el período de estudio.

4.5 Criterios de inclusión

Todos los pacientes a quienes se les solicitaron compatibilidad sanguínea y presentaron alguna forma de incompatibilidad.

Pacientes en quienes se solicitarón dichos estudios (pacientes hospitalizados y de COEX).

4.6 Criterios de exclusión

Pacientes que no presentaron las dos pruebas de coombs de manera consecutiva.

4.7 Variables Estudiadas

Prueba de coombs directa
 Prueba de coombs indirecta
 Edad
 Antecedentes patológicos
 Sexo
 Ocupación laboral
 Procedencia
 Antecedentes maternos
 Antecedentes del nacimiento
 Panel eritrocitario

4.8 Cuadro de Operacionabilidad

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDICIÓN
Prueba de Coombs Directa	Se utiliza para detectar antígenos que se han fijado a la superficie de los glóbulos rojos	Se realizarán prueba en pacientes que presenten incompatibilidad sanguínea	Cualitativa	Nominal	Positiva Negativa
Prueba de Coombs Indirecta	Busca anticuerpos libres circulantes en el citoplasma, aplicando una serie de glóbulos rojos estandarizados	Se la realizará prueba en pacientes que presenten prueba de coombs directa positiva	Cualitativa	Nominal	Positiva Negativa
Edad	Cada uno de los periodos en que se considera dividida la vida humana	Se dividirá en rangos de edad a los pacientes que entren a estudio	Cuantitativa	Intervalos	Menos 24 hrs. 1-7 días 8-30 días 2-6 meses 7-1 año 2-5 años 6-10 años 11-21 años 22-40 años Mayor de 40 años
Antecedentes Patológicos	Son todos los acontecimientos ligados al historial médico, quirúrgico, traumático, gineco-	Se buscará en el historial de los pacientes enfermedades autoinmunes (LES;	Cualitativa	Nominal	Sí No

	obstetricos, y exposición a factores ambientales, de los pacientes y que puedan estar afectando la patología actual.	Linfomas, LLC), infecciones (Infecciones víricas, mycoplasma, Mononucleosis infecciosa, Sífilis), procesos linfoproliferativos (LLA, LMA), ingesta de medicamentos (metil dopa, ácido mefanámico, clorpromazina, estreptomina, fenacetina, L-DOPA, procainamida, interferón), antecedentes de transfusiones sanguíneas			
Sexo	Es la diferencia entre los gametos y la naturaleza binaria de la fertilización.	Se dividirá los sexos de los pacientes, para determinar la frecuencia de afectación	Cualitativa	Nominal	Femenino Masculino
Ocupación laboral	Conjunto de empleos cuyas tareas presentan una gran similitud. Corresponde al Grupo Primario	Se tomará en cuenta la ocupación laboral, para observar el riesgo de exposición a factores físicos y químicos, que intervengan en la producción de antígenos-anticuerpos en los pacientes	Cualitativa	Nominal	Si No
Procedencia	Lugar de nacimiento	Se tomará en cuenta el área geográfica de nacimiento de las pacientes	Cualitativa	Nominal	Capital Interior

Antecedentes maternos	Son los antecedentes del embarazo de la madre	Se buscarán los antecedentes maternos (edad, No. de gestas, grupo sanguíneo, control prenatal) en pacientes de 0-1 año	Cualitativa	Nominal	Si No
Antecedentes del nacimiento	El historial médico al momento del nacimiento	Se tomará en cuenta el tipo de nacimiento (parto-cesárea), tipo de atención (medico-comadrona-otros) en los pacientes de 0-1 año	Cualitativa	Nominal	Si No
Panel eritrocitario	Sirve para encontrar cuales antígenos pueden estar produciendo la hemólisis del eritrocito	Se realiza una prueba en la cual por medio de un panel de 11 antígenos se busca junto con la combinación de muestra del plasma del paciente, cuales son los anticuerpos que pueden estar produciendo la hemólisis del eritrocito	Cualitativa	Nominal	Si No

4.9 Instrumentos utilizados para la recolección de información

Se utilizó una boleta de recolección de datos en la cual se incluyó la edad, sexo, ocupación, lugar de procedencia, residencia actual, antecedentes patológicos (familiares, médicos, quirúrgicos, traumáticos, gineco-obstétricos), exposición a factores ambientales y el diagnóstico probable actual. Ver anexo No. 1

4.10 Procedimiento para la recolección de la información

Se realizaron las pruebas de Coombs a los pacientes que se les solicitó compatibilidad sanguínea y presentaron alguna forma de incompatibilidad, así también se hará en los pacientes en quienes se solicitaron dichos estudios (pacientes hospitalizados y de COEX).

Al dar las dos muestras de Coombs positiva, se busco por medio de la historia clínica, el probable diagnóstico del paciente y en aquellos que se encontró con algún diagnóstico a estudio, se les realizo las pruebas de la casa comercial Diamed (Bio-RAD ID-DiaCell I-II-III y Bio-RAD Set ID-Dia Panel), que puede detectar hasta once antígenos causantes de la hemólisis prematura del eritrocito y así correlacionar con la clínica que presente el paciente.

Con las pruebas de Coombs y los diagnósticos de los pacientes se realizó una clasificación de los antígenos más frecuentes encontrados en dichas afecciones y se realizaron una correlación entre éstos y las patologías encontradas, así como cuales de ellas fueron las más frecuentes.

4.11 Procedimientos para garantizar aspectos éticos de la investigación

Se solicitaron los permisos pertinentes para obtener los datos de la investigación, informando a las autoridades de Banco de Sangre del Departamento de Patología del Hospital Roosevelt.

Los datos personales obtenidos de cada caso fueron de carácter confidencial y únicamente se utilizaron para cumplir con los objetivos de la investigación.

V. RESULTADOS

TABLA No. 1

RELACIÓN DE LOS PACIENTES CON LAS VARIABLES SEXO, PROCEDENCIA Y RESIDENCIA ACTUAL

SEXO	T	PROCEDENCIA		T	RESIDENCIA		T
		INTERIOR	CAPITAL		INTERIOR	CAPITAL	
M	14	7	7	14	7	7	14
F	41	18	23	41	16	25	14
T	55	25	30	55	23	32	55

FUENTE: BANCO DE SANGRE, HOSPITAL ROOSEVELT, CASOS DE PACIENTES CON PRUEBAS DE COOMBS POSITIVO, 2010-2011

TABLA No. 2

PACIENTES POR RANGO DE EDAD QUE PRESENTARON ANTECEDENTES PATOLÓGICOS

EDAD	FRECUENCIA	FAMILIARES	MÉDICOS	QUIRÚRGICOS	TRAUMÁTICOS	GINE-OBST.	EXP. AMB.2	FACT.
menos 24 hrs	0	0	0	0	0	0	0	
1-7 días	5	1	0	0	0	0	0	
8-30 días	1	0	0	0	0	0	0	
2-6 meses	0	0	0	0	0	0	0	
7-1 año	1	0	1	1	0	0	0	
2-5 años	2	1	2	1	0	0	0	
6-10 años	4	1	1	1	0	0	0	
11-20 años	12	0	8	2	0	0	1	
21-30 años	7	0	5	1	1	5	0	
31-40 años	7	3	5	3	0	3	1	
mayor 40 años	16	5	11	6	1	10	1	
TOTAL	55	11	33	15	2	18	3	

FUENTE: BANCO DE SANGRE, HOSPITAL ROOSEVELT, CASOS DE PACIENTES CON PRUEBA DE COOMBS POSITIVO, 2010-2011

TABLA No. 3

**RELACIÓN DE LOS DIAGNÓSTICOS DE LOS PACIENTES CON LOS ANTIGENOS-
ANTICUERPOS ENCONTRADOS POR LA PRUEBAS DE COOMBS**

DIAGNÓSTICO	T	Anti-Rh	Anti-Kell	Anti-Lewis	Anti-Lutherand	Anti-Kidd	Anti-MNS	Anti-Duffy	Anti-P
Anemia Hemolítica	20	2	8	1	14	1	1	2	6
Sepsis	8	6	2	1	3	3	3	2	2
LLA	5	2	2	0	2	3	1	0	1
ICTERICIA NEONATAL	4	4	0	0	0	1	2	3	1
Sx. CONVULSIVO	3	2	1	0	0	1	2	2	0
LMC	3	2	1	1	1	1	1	0	0
Water Melon Stomach	1	0	1	0	1	0	0	0	0
DM II	2	2	0	0	0	0	0	0	0
LGC	1	1	0	1	0	1	1	0	0
PRECLAMPSIA MODERADA	1	1	0	0	1	0	0	1	0
SX. ANTIFOSFOLIPIDOS	1	0	1	0	1	0	0	0	0
TVP	1	0	1	0	1	0	0	0	0
NEUMONIA	1	1	0	0	0	0	1	1	0
IRC	5	0	5	0	3	0	1	0	1
ACV	1	1	0	0	0	0	1	0	0
ASTROCITOMA	1	0	1	0	1	0	0	0	1
CA. CERVIX	1	0	1	0	0	0	0	0	0
ANEMIA MEGALOBLASTICA	1	0	1	0	1	0	0	0	0
PTI	1	1	0	0	0	0	0	0	0
LES	2	0	2	1	1	0	0	0	
Sx. MIELODISPLASICO	1	0	1	0	1	0	0	0	0
HGIS	1	1	0	0	0	0	1	1	0
LINFOMA	1	1	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	66	27	28	5	31	11	15	13	12

FUENTE: BANCO DE SANGRE, HOSPITAL ROOSEVELT, CASOS DE PACIENTES CON PRUEBA DE COOMBS POSITIVO, 2010-2011

- **LLA:** Leucemia Linfocítica Aguda
- **LMC:** Leucemia Mielocítica Crónica
- **LMG:** Leucemia Granulocítica Crónica
- **DM II:** Diabetes Mellitus tipo II
- **LES:** Lupus Eritematoso Sistémico
- **IRC:** Insuficiencia Renal Crónica
- **TVP:** Trombosis Venosa Profunda
- **HGIS:** Hemorragia Gastrointestinal Superior
- **PTI:** Purpura Trombocitopenica Idiopática

TABLA No. 4

ANTECEDENTES MATERNOS DE PACIENTES MENORES DE UN AÑO CON PRUEBAS DE COOMBS POSITIVO

EDAD	SEXO	EDAD MATERNA	No. GESTAS	CONTROL PRENATAL	COMPLICACIONES EMBARAZO
2 d	F	25 a	1	SI	NO
2 d	M	24 a	1	SI	SI
6 d	M	23 a	1	NO	SI
7 d	F	20 a	1	SI	NO
7 d	F	21 a	1	SI	NO
13 d	F	25 a	2	SI	SI

FUENTE: BANCO DE SANGRE, HOSPITAL ROOSEVELT, CASOS DE PACIENTES CON PRUEBA DE COOMBS POSITIVO, 2010-2011

TABLA No. 5

GRUPO SANGUINEO MATERNO DE PACIENTES MENORES DE UN AÑO CON PRUEBAS DE COOMBS POSITIVO

GRUPO SANGUINEO	RH POSITIVO	RH NEGATIVO
O	2	3
A	0	1
AB	0	0

FUENTE: BANCO DE SANGRE, HOSPITAL ROOSEVELT, CASOS DE PACIENTES CON PRUEBA DE COOMBS POSITIVO, 2010-2011

TABLA No. 6

ANTECEDENTES DEL NACIMIENTO EN PACIENTES MENORES DE UN AÑO CON PRUEBAS DE COOMBS POSITIVO

EDAD	SEXO	PES	COMADRONA	MÉDICO	COMPLICACIONES
2 d	F	X	X	0	X
2 d	M	X	X	0	X
6 d	M	X	X	0	X
7 d	F	X	0	X	0
7 d	F	X	0	X	0
13 d	F	X	0	X	X

FUENTE: BANCO DE SANGRE, HOSPITAL ROOSEVELT, CASOS DE PACIENTES CON PRUEBA DE COOMBS POSITIVO, 2010-2011

VI. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS

Las patologías más frecuentes asociadas a la formación de antígeno-anticuerpo fueron la Anemia Hemolítica 36%, Sepsis 15%, Leucemia Linfocítica Aguda 9% y en menores de 1 año la Ictericia Neonatal en un 7%.

De la población a estudio los pacientes de más de 40 años representaron el 29% de la población, seguidos de el rango de 11-20 años con un 22%, que casos que coinciden con la literatura, en el apareamiento de enfermedades de tipo inmunológico o hematológico. Encontrando en un 60% antecedentes médicos y 28% quirúrgicos. En el caso de pediatría fueron el 24% (menos de 24 horas-10 años) incluyendo como diagnósticos más frecuentes los de tipo Infeccioso e Inmunológicos.

6.1 CONCLUSIONES

6.1.1 Los diagnósticos de ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE y SEPSIS, fueron los que presentaron el mayor número de casos con pruebas de coombs positivo (48%), con la formación de más de cinco subtipos de antígeno-anticuerpo, siendo los más frecuentes Anti-Rh, Anti-Kell y Anti-Lutherand.

6.1.2 Los rangos etarios más afectados fueron: 11-20 años (22%), 21-30 años (13%), 31-40 años (13%) y con más de 40 años (29%).

6.1.3 En el 60% de la población total se encontraron antecedentes de tipo médico, los cuales fueron de tipo hematológico e inmunológico, siendo los más comunes Leucemias (14%), Lupus eritematoso sistémico (4%), Diabetes Mellitus tipo II (4%), entre otros, predisponiéndolos a presentar reacciones de tipo hemolítico las cuales fueron positivas en las pruebas de coombs.

6.2 RECOMENDACIONES

6.2.1 Se recomienda a las autoridades correspondientes de los distintos departamentos médicos del Hospital Roosevelt, poner un sistema de vigilancia que ayude a evitar las transfusiones de hemocomponentes de una manera desmedida e innecesaria a través de la actualización de protocolos de transfusión, según el tipo de patología que presenten los pacientes; evitando así el riesgo de reacciones hemolíticas innecesarias.

6.2.2 Informar y capacitar a través de guías básicas sobre la utilización y el manejo de los hemocomponentes al personal médico y paramédico que solicite y administre una transfusión de hemocomponentes.

6.2.3 Dar seguimiento a los pacientes que tengan alguna prueba de coombs positivo, para poder documentar y tipificar los casos para evitar sus futuras complicaciones.

6.2.4 Realizar un rastreo de anticuerpos a todos los donantes de componentes sanguíneos, para evitar la inmunosensibilización de los pacientes.

VII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. ACOSTA, T.; NÚÑEZ, SUÁREZ. “Anemia hemolítica por deficiencia de G6PD y estrés oxidativo.” Revista Cubana de Investigación Biomédica. Julio-septiembre, 2003, Vol. 22, No. 3.
2. BENCOMO, ANTONIO.; ALFONSO VALDEZ, MARIA ELENA, et. “Detección y cuantificación de autoanticuerpos en los hematíes de pacientes con anemia hemolítica autoinmune con pruebas de Coombs negativa.” Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia. septiembre-diciembre, 2005, Vol. 21, No. 3.
3. BUCHACA F., EMILIO; RODRIGUEZ VASQUEZ, JUAN; et. “Síndrome antifosfolípido: aspectos diagnósticos y terapéuticos.” Revista Cubana Médica. septiembre-diciembre, 2005, Vol. 34, No. 3.
4. CHIORAZZI., NICHOLAS; KANTI R. RAI; et. Leucemia Linfocítica Crónica (Chronic Lymphocytic Leukemia). The New England Journal of Medicine. Febrero 24, 2005. Vol. 352:804-815, No. 8.
5. COPELAN., A. EDWARD. Transplante de Celulas Hematopoyeticas (Hematopoietic Stem-Cell Transplantation). The New England Journal of Medicine. Abril 27, 2006. Vol. 354:1813-1826, No. 17.
6. CORTINA R., LAZARO; LOPEZ DE ROUX, MARIA DEL ROSARIO. Reacción transfusional hemolítica inmune inmediata. Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia. mayo-agosto 2006. Vol.22, No.2.
7. DAVIDSON., ANNE; BETTY DIAMOND. Desórdenes Autoinmunes (Autoimmune Diseases). The New England Journal of Medicine. Agosto 2, 2001. Vol. 345:340-350, No. 5.

8. DAVILA, ANTONIO ALFONSO; VILLEGAS CRUZ, DEBORA, et. Enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad Duffy: reporte de un caso. Revista Cubana Pediatría. abril-junio, 2008. Vol. 80, No.2.
9. DEIVES., J. PETER; IVAN M. ROITT. El Sistema Inmune - Segunda Parte (The Immune System – Second of Two Parts). The New England Journal of Medicine. Julio 13, 2000. Vol. 343:108-117, No. 2.
10. DEIVES., J. PETER; IVAN M. ROITT. El Sistema Inmune – Primera Parte (The Immune System – First of Two Parts). The New England Journal of Medicine. Julio 6, 2000. Vol. 343:37-49, No. 1.
11. EMBARAZO Y TRANSFUSIÓN Y SU ASOCIACIÓN CON ALOANTICUERPOS INESPERADOS DE SIGNIFICANCIA CLÍNICA CONTRA ANTÍGENOS ERITROCITARIOS. Editora Médica del Valle, Universidad del Valle, Cali, Colombia. 1999. Vol. 30:26-31.
12. JIANG., HONG; LEONARD CHESS. Regulación de la Respuesta Inmune por Linfocitos T (Regulation of Immune Responses by Tcells). The New England Journal of Medicine. Marzo 16, 2006. Vol. 354:1166-1176, No. 11.
13. JIMÉNEZ., MARÍA T. PINEDA ALVARO. Aloinmunización a antígenos eritrocitarios y su epidemiología. Revista Argentina Transfusional. Jul-Sept, 2001. Vol. 27:241-251, No. 3.
14. KAMRAD., THOMAS; N. AVRION MITCHISON. Autoinmunidad y Tolerancia (Tolerance and Autoimmunity). The New England Journal of Medicine. Marzo 1, 2001. Vol. 344:655-664, No. 9.
15. RAHMAN., ANISUR; DAVID A. ISENBERG. Lupus Eritematoso Sistémico (Systemic Lupus Erythematosus). The New England Journal of Medicine. Febrero 28, 2008. Vol. 358:929-939, No. 9.

16. RUSLAN., MEDZHITOV; CHARLES JANEWAY. Inmunidad Innata (Innate Immunity). The New England Journal of Medicine. Agosto 3, 2000. Vol. 343:338-344, No. 5.
17. ROBLES., DÍAZ, DAVID ALBERTO. Síndromes Anémicos (Segunda Parte). Revista Diagnostico. Julio-Septiembre, 2005. Vol. 44, No. 3.
18. RUIZ., FRANCO OSCAR. Síndromes Anémicos (Segunda Parte). Revista Diagnostico. Julio-Septiembre, 2005. Vol. 44, No. 3.
19. TRANSFUSIONES SANGUINEAS POR ESCS (TRANSFUSABLE BLOOD TO BE MADE FROM ESCS). Labmedical International. Abril 7, 2009.
20. VALDEZ, ALFONSO YALILE; BENCOMO HERNANDEZ, ANTONIO; et. Micrométodo para la detección de clases y subclases de inmunoglobulinas en el eluido de eritrocitos de pacientes con AHAI. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia. septiembre-diciembre, 2002. Vol.18, No.3.
21. VALDES ALFONSO, YALILE; HERNANDEZ, ANTONIO B. Procedimientos para la detección e identificación de anticuerpos eritrocitarios. Revista Cubana Hematología Inmunología y Hemoterapia. Mayo-agosto 2001. Vol.17, No.2.
22. VILLAESCUSA B., RINALDO; ARCE HERNANDEZ, ADA A.; et. Presencia de Inmunocomplejos circulantes y alteraciones del sistema complemento en pacientes con leucemia promielocítica y coagulación intravascular diseminada. Revista Cubana Hematología Inmunología y Hemoterapia. Enero-abril 1999. Vol.15, No.1.
23. VILLAESCUSA, RINALDO; BENCOMO HERNANDEZ, ANTONIO, et. Posible participación del sistema complemento en el desarrollo de manifestaciones autoinmunes en la leucemia linfocítica crónica. Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia. Enero-abril, 2002. Vol. 18, No. 1.

24. WEST., CORI J.; PHIL D. STACEY; M. POLLOCK – BARZIV; et. Incompatibilidad ABO en Transplante del Corazon en Infantes (ABO-Incompatible Heart Transplantation in Infants). The New England Journal of Medicine. Marzo 15, 2001. Vol. 344:793-800, No. 11.

25. PETERSDORF EFFIE W.; JONH A. HANSEN; et. Alelos y Antígenos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase I en el Transplante de Celulas Hematopoyéticas (Major-Histocompatibility-Complex Class I Alleles and Antigens in Hematopoietic-Cell transplantation). The New England Journal of Medicine. Diciembre 20, 2001. Vol. 345:1794-1800, No. 25.

VIII. ANEXOS

Anexo No.1

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Edad: _____

Sexo: _____

Ocupación: _____

Procedencia: _____

Residencia Actual: _____

Antecedentes Patológicos:

- Familiares: _____
- Médicos: _____
- Quirúrgicos: _____
- Traumáticos: _____
- Gineco-obstétricos: _____
- Exposición a Factores Ambientales: _____

Prueba de Coombs Positiva:

Directa

Indirecta

Grupo Sanguíneo: _____

Diagnostico Actual: _____

Antecedentes Maternos (Solamente en pacientes de 0-1 año):

- **Edad:**_____
- **G:**_____ **P:**_____ **Ab:**_____ **HV:**_____ **HM:**_____
- **Grupo Sanguíneo y Rh:** Conocido_____ Tipo_____ Desconocido_____
- **Control Prenatal:** Si_____ No_____

Antecedentes del Nacimiento (Solamente en pacientes de 0-1 año):

- **Tipo:** Parto_____ Cesárea_____
- **Atendido:** Medico_____ Comadrona_____ Otros_____
- **Complicaciones durante el Nacimiento:** Si_____ No_____

PERMISO DEL AUTOR PARA COPIAR EL TRABAJO

El autor concede permiso para reproducir total o parcialmente y por cualquier medio la tesis titulada "DETERMINACIÓN DE LAS PATOLOGIAS MÁS FRECUENTES ASOCIADAS A LA FORMACIÓN DE ANTIGENOS Y ANTICUERPOS ERITROCITARIOS" para propósitos de consulta académica. Sin embargo quedan reservados los derechos del autor que confiere la ley, cuando sea cualquier otro motivo diferente al que se señala lo que conduzca a su reproducción o comercialización total o parcial.