UNIVERSIDAD DE El SALVADOR

FACULTAD DE MEDICINA

LICENCIATURA EN LABORATORIO CLINICO

PRE-ESPECIALIZACION EN BANCO DE SANGRE

TRABAJO DE GRADUACION

"INCOMPATIBILIDAD DEL SISTEMA RH EN EL EMBARAZO Y MEDICINA TRANSFUCIONAL"

Licda. Yanira Cerón

Directora de la Carrera Licenciatura en Laboratorio Clínico

Kelly Stefanie Hernández González

Egresada

Ciudad Universitaria octubre 2024.

AUTORIDADES DE UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Rector: Msc. Juan Rosa Quintanilla

Vicerrectora académica: Dra. Evelyn Beatriz Farfán

Vicerrector administrativo: Msc. Roger Arias

Secretario general: Lic. Pedro Rosalío Escobar Castaneda

Defensora de los derechos universitarios: Licda. Ana Ruth Avelar

Fiscal: Lic. Carlos Amilcar Serrano Rivera

AUTORIDADES FACULTAD DE MEDICINA

Decano: Dr. Saúl Díaz Peña

Vicedecano: Lic. Franklin Arnulfo Méndez Durán

Secretario: Lic. Roberto Carlos Hernández Marroquín

Administradora académica: Msc. Josefa Moran de Coreas

Director de la Escuela de Ciencias de la Salud: Msc. Mónica Raquel Ventura de Ramos

Directora de la Carrera: Licda. Yanira Elizabeth Cerón Cerón

INDICE

INTRODUCCION.....pág. 4

DESARROLLO.....pág. 5

INCOMPATIBILIDAD EN EMBARAZO.....pág. 6

TRANSFUSION.....pág. 8

CONCLUSION.....pág. 9

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....pág. 10

Introducción

El sistema Rh es el grupo sanguíneo más complejo y polimórfico de la membrana del glóbulo rojo, está compuesto por más de 45 antígenos definidos por métodos serológicos, lo más importantes son los antígenos: D, C, c, E y e. la presencia o ausencia del antígeno D n la membrana eritrocitaria define a un individuo como RhD positivo o RhD negativo, el sistema Rh representa un gran interés clínico en obstetricia y medicina transfusional debido a la participación de los aloanticuerpos en la destrucción inmune de los glóbulos rojos. Los antígenos de este sistema son sumamente inmunogénicos y juegan un papel central en la patogénesis de la enfermedad hemolítica fetoneonatal, en algunas anemias hemolítica autoinmunes y en reacciones transfusionales.

El factor Rh descubierto en 1940 por Landsteiner y Wiener, fue reconocido muy poco tiempo después por Levine como agente aloinmunizante en la especie humana. Este último pudo demostrar la presencia de aglutininas anti-Rh en madres que dieron a luz niños con el síndrome de la Enfermedad Hemolítica y observo reacciones hemolíticas post-transfusionales gravísimas, fatales algunas. Numerosos autores contribuyeron a darle la importancia hoy establecida al factor Rh como causante de la aloinmunización de la mujer durante el embarazo.

Se pensó en seguida en el problema de la aloinmunización por transfusión. La inyección de sangre Rh positiva en un receptor Rh negativo expondría a este a sufrir la isoinmunizacion a este factor y por consiguiente a las reacciones hemolíticas en transfusiones posteriores. Así Wiener publica algunos casos y advierte el riesgo que corren algunos receptores Rh negativos.

Según la teoría propuesta por Fisher y Race en 1943, el sistema Rh estaría compuesto por tres genes, cada uno con dos alelos. Los productos de estos genes parecen ser los antígenos D/d, C/c y E/e. Los tres *loci* parecen estar estrechamente ligados en cada cromosoma formando los haplotipos DCe, Dce, DCE, DcE, dce, dCe, dcE y dCE que se transmiten de una generación a otra como una unidad o complejo génico

Wiener propuso en 1951 que la herencia del sistema Rh podría depender de un solo gen con múltiples alelos. Cada gen produciría un antígeno sobre el cual podrían identificarse varios factores, capaces de reaccionar con los anticuerpos específicos. Estas dos teorías permiten interpretar los hallazgos del laboratorio inmunohematológico, pero no explican el elevado polimorfismo asociado al sistema Rh.

En 1991, Colin propuso que el locus del sistema Rh está compuesto por dos genes y estableció las bases genéticas asociadas a los fenotipos RhD positivo y RhD negativo. En resumen:

- El locus *RH* está compuesto por dos genes homólogos denominados *RHD* y *RHCE*.
- Los individuos caucásicos RhD positivos poseen uno o dos genes *RHD* por célula, mientras que el fenotipo RhD negativo resulta de la ausencia del gen *RHD,* las personas RhD negativas son homocigotas para la deleción del gen *RHD*.
- El gen *RHD* codifica la proteína RhD que expresa los epítopos del antígeno D.
- El gen *RHCE* posee cuatro formas alélicas más comunes: *RHCe, RHce, RHcE* y *RHCE,* las cuales determinan la expresión combinada de los antígenos Ce, ce, cE y *CE* en la proteína RhCcEe.
- Existen variantes alélicas poco frecuentes para ambos genes *RHD* y *RHCE.*

La tipificación del sistema Rh se realiza en el laboratorio clínico por técnicas de hemaglutinación. Esta metodología presenta limitaciones atribuibles a la dificultad para obtener reactivos con alta sensibilidad y a la imposibilidad de acceder al estudio del antígeno en ciertas situaciones clínicas. La determinación de las bases genéticas de este sistema permitió desarrollar métodos de biología molecular, basados principalmente en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para la genotipificación de estos

antígenos. Las técnicas inmunológicas y moleculares, utilizadas en conjunto, permiten el diagnóstico precoz de la incompatibilidad fetomaterna. La genotipificación molecular resulta apropiada para la determinación de antígenos de grupos sanguíneos en pacientes con anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes y en pacientes politransfundidos. También es una herramienta útil para la selección de unidades de sangre compatible en pacientes aloinmunizados y para la tipificación de glóbulos rojos con expresión alterada del antígeno D.

Desarrollo

El sistema Rh es el grupo sanguíneo más complejo y polimórfico de la membrana del glóbulo rojo. Está compuesto por más de 45 antígenos definidos por métodos serológicos, los más importantes son los antígenos D, C, c, E y e.

Las proteínas Rh (RhD y RhCcEe) presentan un 92% de homología y están compuestas por una única cadena polipeptídica de 417 residuos de aminoácidos. Este polipéptido atraviesa la membrana eritrocitaria 12 veces, formando 6 dominios extracelulares y posee los extremos amino terminal y carboxilo terminal orientados hacia el citoplasma.

La expresión de los antígenos del sistema Rh en la membrana eritrocitaria requiere la presencia de una glucoproteína asociada, denominada RhAG. Las proteínas Rh, la glucoproteína RhAG y otras proteínas accesorias (LW, CD47, GPB y Banda 3) se asocian en la membrana del glóbulo rojo formando el complejo Rh. El núcleo central de este complejo está compuesto por un tetrámero formado por dos moléculas RhAG y dos monómeros RhD o RhCcEe estabilizado por asociaciones entre los dominios amino terminal y carboxilo terminal. Las proteínas accesorias se asocian a este tetrámero por uniones no covalentes.

El antígeno D es un mosaico compuesto por al menos 24 epítopos diferentes expresados sobre el polipéptido RhD. El polimorfismo C/c está asociado principalmente a la sustitución del aminoácido Ser por Pro en la posición 103 presente en el segundo dominio extracelular, mientras que el polimorfismo E/e está asociado a una sustitución del aminoácido Pro por Ala en la posición 226 en el cuarto dominio extracelular de la proteína RhCcEe.

Los antígenos del sistema Rh pueden presentar alteraciones en su expresión dando origen a fenotipos débiles, parciales o delecionados. Estos fenotipos son los productos de las variantes alélicas de los genes *RH*.
Los glóbulos rojos con fenotipo D débil (D^u) poseen un número de sitios antigénicos D menor que los eritrocitos RhD positivos. Los fenotipos D parciales se caracterizan por la ausencia de uno o más epítopos del antígeno D asociado en algunos casos con una expresión antigénica débil. Estas variantes no reaccionan con algunos anticuerpos anti-D monoclonales o son identificadas porque los individuos son capaces de producir aloanticuerpos contra los epítopos que no poseen.

Sin embargo, los estudios moleculares demostraron que en los fenotipos D débiles la proteína RhD también se encuentra ligeramente modificada, por lo que se llega a la conclusión de que las variantes D débiles y D parciales deberían nombrarse D aberrantes, ya que toda expresión alterada del antígeno D representa un único fenotipo. El gen *RHD* tiene un alelo de alta frecuencia responsable del fenotipo RhD positivo y distintas variantes alélicas, menos frecuentes, que dan origen a los fenotipos D parcial, D débil y a proteínas RhD que no se expresan en la membrana eritrocitaria.

Los eventos moleculares que conducen a los fenotipos D parciales producen la sustitución de aminoácidos localizados en dominios extracelulares de la proteína RhD modificando el epítopo

antigénico. Por el contrario, los alelos D débiles son responsables de sustituciones de aminoácidos en los dominios intracelulares o transmembrana de la proteína RhD. Estos cambios de aminoácidos modificarían la estructura secundaria y terciaria del polipéptido RhD o alterarían su integración a la membrana celular provocando una disminución en la expresión de los epítopos D.

Un pequeño porcentaje de individuos de raza blanca (0.2% a 1%) presentan una expresión reducida del antígeno D sobre los glóbulos rojos, detectada por la prueba de la antiglobulina indirecta. Estas células son clasificadas como D débiles (D^u) y representan variantes cuantitativas, o en un menor porcentaje variantes cualitativas (D parciales) del antígeno D. Aproximadamente un 5% de individuos tipificados como D débiles pertenecen en realidad a la categoría D^{VI} y son capaces de producir anticuerpos anti-D de gran importancia clínica.

La discriminación serológica de estos fenotipos es, en la mayoría de los casos, dificultosa, ya que depende fundamentalmente de la sensibilidad y disponibilidad de anticuerpos monoclonales dirigidos contra epítopos específicos de la proteína RhD. Las reacciones serológicas presentan patrones de aglutinación muy débiles y confusos, lo cual dificulta su interpretación.

Por ello se sugiere la utilización de técnicas de biología molecular, es apropiada para resolver aquellos casos donde la caracterización serológica de los eritrocitos no es concluyente. La correcta identificación de los fenotipos con expresión aberrante de la proteína RhD es de gran utilidad en medicina transfusional. Los glóbulos rojos RhD positivos débiles podrían estimular una inmunización anti-D en personas RhD negativas. Además, es importante la caracterización del fenotipo D^{VI} en receptores, ya que estos individuos deben recibir sangre RhD negativa para evitar la formación de aloanticuerpos dirigidos contra el antígeno D. Por esta misma razón, las mujeres embarazadas con fenotipo D^{VI} deben realizar la profilaxis con inmunoglobulina anti-D.

Incompatibilidad Rh en el embarazo

Es una afección que se desarrolla cuando una mujer embarazada tiene sangre Rh negativa y el bebé que lleva en su vientre tiene sangre Rh positiva. Durante el embarazo, los glóbulos rojos del feto pueden pasar a la sangre de la madre a través de la placenta.

Su sistema inmunitario trata a las células fetales Rh positivas como si fuesen una sustancia extraña. El cuerpo de la madre crea anticuerpos contra dichas células sanguíneas fetales. Estos anticuerpos pueden pasar de nuevo a través de la placenta hacia el feto. Los anticuerpos destruyen los glóbulos rojos circulantes del bebé.

Los bebés primogénitos a menudo no se ven afectados, a menos que la madre haya tenido embarazos interrumpidos o abortos espontáneos anteriormente. Esto pudo haber sensibilizado su sistema inmunitario. Esto se debe a que lleva tiempo para que la madre desarrolle anticuerpos. Todos los hijos que ella tenga después de esto que también sean Rh positivos pueden resultar afectados.

La enfermedad hemolítica fetoneonatal es causada por anticuerpos maternos dirigidos frecuentemente contra el antígeno D. El uso generalizado de la profilaxis con inmunoglobulina anti-D ha disminuido considerablemente esta inmunización, sin embargo, aproximadamente uno de cada mil recién nacidos es afectado por la enfermedad hemolítica Rh. Los anticuerpos maternos se forman en respuesta a una aloinmunización por el pasaje de eritrocitos incompatibles a la circulación materna. Las consecuencias clínicas de esta sensibilización pueden conducir a anemia hemolítica fetal, *hydrops fetalis*, muerte intrauterina o necesidad de parto prematuro. En embarazos posteriores es importante investigar la presencia en los eritrocitos fetales del antígeno D, especialmente cuando el padre es heterocigoto. Si el

padre no es portador del antígeno D, no existe ningún riesgo de enfermedad hemolítica. Hasta hace poco tiempo, las opciones de tratamiento para embarazadas RhD negativas sensibilizadas incluían procedimientos invasivos como amniocentesis seriadas para predecir la anemia fetal y cordocentesis para la determinación serológica del antígeno D, siendo incorporadas a este grupo pacientes cuyos fetos son RhD negativos. Este abordaje implica riesgos para la continuación del embarazo (0.5% a 1%) y puede aumentar la sensibilización como resultado de hemorragias maternofetales (1% a 2%).

La incompatibilidad Rh se puede prevenir casi en su totalidad. A las madres Rh negativas se les debe hacer un control estricto durante el embarazo por parte de su médico.

En la actualidad, se utilizan inmunoglobulinas especiales, llamadas RhoGAM , para prevenir la incompatibilidad Rh en madres que son Rh negativas.

Si el padre del bebé es Rh positivo o si no se desconoce su tipo de sangre, a la madre se le aplica una inyección de RhoGAM durante el segundo trimestre. Si el bebé es Rh positivo, la madre recibirá una segunda inyección al cabo de unos días del parto.

Estas inyecciones previenen el desarrollo de anticuerpos contra la sangre Rh positiva. Sin embargo, las mujeres con un tipo de sangre Rh negativo deben recibir inyecciones:

- Durante cada embarazo
- Después de un aborto espontáneo o un aborto provocado
- Después de exámenes prenatales como amniocentesis y biopsia de vellosidades coriónicas
- Después de una lesión al abdomen durante un embarazo

La determinación de las bases genéticas del sistema Rh impulsó el desarrollo de métodos diagnósticos moleculares útiles para identificar fetos en riesgo de enfermedad hemolítica fetoneonatal. La gran sensibilidad y exactitud de los ensayos basados en PCR permite la determinación del gen *RHD* y de alelos del gen *RHCE* en ADN fetal extraído de células del líquido amniótico.

Se diseño una estrategia de PCR multiplex para determinar precozmente la presencia del antígeno D en eritrocitos fetales, analizando el ADN obtenido de una única amniocentesis de embarazadas aloinmunizadas. Esta metodología evita la utilización de métodos diagnósticos invasivos y estrategias terapéuticas expansivas y costosas cuando el feto es RhD negativo.

Uno de los últimos avances en la enfermedad hemolítica fetoneonatal es la determinación de la cigosidad del gen RHD en padres RhD positivos. Este estudio se realiza mediante una estrategia de PCR que permite detectar la deleción del gen RHD amplificando específicamente la caja Rhesus híbrida. Esta determinación molecular es simple y confiable y permite un mejor manejo de embarazadas sensibilizadas.

Transfusión

La determinación del fenotipo Rh en pacientes recientemente transfundidos presenta algunas dificultades ya que las técnicas de hemaglutinación detectan los antígenos presentes en los eritrocitos del donador y del receptor. La imposibilidad para asignar el fenotipo Rh puede dificultar una correcta identificación de aloanticuerpos, frecuentes en pacientes politransfundidos. La genotipificación RH en esta situación clínica permite identificar correctamente los antígenos presentes en el receptor, facilitando el estudio de anticuerpos irregulares. Esta metodología es útil para la selección de sangre negativa para el antígeno contra el cual está dirigido el aloanticuerpo.

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.

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.

En el caso de pacientes dependientes de una terapia transfusional, que producen aloanticuerpos ,un perfil extendido de antígenos permite determinar antígenos adicionales de grupos sanguíneos a los cuales estos pacientes se pueden sensibilizar.

Algunos anticuerpos Rh se encuentran juntos, por ejemplo, un paciente con DCe/DCe y con anti-E muy probablemente ha estado expuesto al antígeno c también. El anti-c puede estar presente junto con el anti-E, pero puede ser débil y no detectable en el momento de la prueba. La sangre E negativo muy probablemente será c positivo y su transfusión puede provocar una reacción inmediata o tardía, por lo tanto, hay partidarios de evitar la transfusión de sangre c positivo en esta situación. En cambio, no se justifica buscar anti-E en sueros con anti-c porque probablemente el paciente estuvo expuesto al antígeno c sin saber haber estado expuesto a E, además, la gran mayoría de los donantes de sangre son c negativos para E.

Conclusión

La reacción en cadena de la polimerasa es un método molecular de gran utilidad que permite resolver las limitaciones que presentan las técnicas clásicas de hemaglutinación. Ambas metodologías, utilizadas en conjunto, permiten el diagnóstico precoz de la incompatibilidad Rh fetomaterna y la elección terapéutica adecuada para prevenir la aloinmunización materna. La genotipificación molecular también resulta apropiada para la determinación de antígenos de grupos sanguíneos en pacientes con anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes y en pacientes politransfundidos. Además, es una herramienta útil para la selección de unidades de sangre compatible en pacientes aloinmunizados y para la tipificación de glóbulos rojos con expresión alterada del antígeno D.

Referencias Bibliográficas

Carlos Miguel Cotorruelo. *Genética molecular del sistema Rh, Importancia clínica.* 2004. Disponible en: https://www.siicsalud.com/des/expertoimpreso.php/68689

Roberto V. Dessauer K y Máximo Schepeler. *Factor Rh y Transfusión de sangre en el niño.* Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/pdf/rcp/v17n4/art04.pdf

Moise KJ. Red cell alloimmunization. In: Landon MB, Galan HL, Jauniaux ERM, et al, eds. *Gabbe's Obstetrics: Normal and Problem Pregnancies.* 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2021: chap 40. Traducción y localización realizada por: DrTango, Inc. Disponible en: https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/001600.htm#:~:text=La%20incompatibilidad%20Rh%20se%20presenta,habitualmente%20inmunoglobulinas%20especiales%20llamadas%20RhoGAM

Dr. Lázaro Cortina Rosales y Dra. María del Rosario López de Roux. *Reacción transfusional hemolítica inmune inmediata.* 2006. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892006000200001