

**Frecuencia de antígenos eritrocitarios del sistema ABO y RH (d), en la etnia Weenhayek o Matacos, asentada en el Chaco boliviano, Sucre 2010**

Claudia Sandoval

C. Sandoval.

Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, Calle Dalence Nº 51, Sucre- Bolivia.

M. Ramos, J. Pizarro, M. Mojica, N. Pereira, M Solis (eds). Tópicos Selectos de Química -©ECORFAN-Bolivia. Sucre, Bolivia, 2014.

## Abstract

One of the ways used today to human groups describe the characterization of genetic markers. These genetic markers identify human or allow us to differentiate between indigenous communities and give us clues as to the ancestors of today's communities are groups.

Most used markers to study the genetic structure of populations, easy and economic analysis, are blood groups. Being the most common ABO and Rh, known worldwide, are excellent system to understand the characteristics of human populations and to infer about their relationships with other related groups.

Nowadays there are few studies on the distribution of antigens and antibodies of the ABO system in the original peoples of Bolivia. It was evident that the ethnic Weenhayek 100% of the population belongs to blood group O and having a total absence of blood group A and B. This fact confirms the presence of an ethnic group with little or no contact with other cultures, polymorphism in the ABO system is scarce.

In Weenhayek ethnicity 100% of the population is positive for the antigen (D) Rh, which corroborates the low polymorphism for the Rh system in this ethnic group. This research confirmed by the determination of erythrocyte antigens ABO and Rh systems the low polymorphism in Weenhayek ethnicity, that despite the frequent invasions, migrations and settlements, this ethnic group maintains its low polymorphism, like many other ethnic groups living along the Bolivian territory.

## 4 Introducción

El sistema sanguíneo ABO desde su descubrimiento hasta nuestros días sigue siendo el sistema antigénico más importante para la transfusión sanguínea, en los trasplantes de órganos sólidos y algunos otros procesos patológicos. Es el único sistema en el cual los anticuerpos recíprocos (o antitéticos) están uniforme y predeciblemente presentes en el suero de las personas que no han sido expuestas a otros eritrocitos humanos y se denominan anticuerpos naturales. Estos son los resultados de la respuesta inmune a la exposición de los antígenos, aunque no se conoce el momento y circunstancia en que esto ocurre porque se encuentran en la naturaleza o medio ambiente que nos rodea.

Se sabe que los latinoamericanos, son el producto de un mestizaje de individuos de diferentes razas. Las investigaciones sobre aspectos genéticos, aportan amplio respaldo acerca de las poblaciones básicas, que si bien varían en proporción están presentes en cada uno de los países americanos.

Una de las maneras utilizadas hoy para describir grupos humanos es la caracterización de marcadores genéticos. Estos marcadores son inmunoglobulinas proteínas que se encuentran en el suero de todos los humanos, sustancias que identifican los glóbulos rojos (Grupos sanguíneos), o específicamente el hallazgo de varios genes en nuestro genoma.

La característica común de todos estos marcadores es que presentan varias formas de cada uno (polimorfismo) lo que permite encontrar diferencias en las frecuencias de cada forma entre individuos, familias, grupos o poblaciones humanas. En resumen, estos marcadores genéticos identifican los grupos humanos o bien nos permiten diferenciar entre las comunidades indígenas y nos dan pistas de cuáles son los ancestros de las comunidades actuales.

Los marcadores más usados para estudiar la estructura genética de las poblaciones, por su fácil y económico análisis, son los grupos sanguíneos. Siendo los más comunes el sistema ABO y el sistema Rh, conocidos por todo el mundo, son excelentes para comprender las características de las poblaciones humanas y poder inferir sobre sus relaciones con otros grupos afines.

En la actualidad existen pocos estudios realizados sobre la distribución de antígenos y anticuerpos del sistema ABO en las etnias originarias de Bolivia.

Como objetivo principal es determinar los Antígenos eritrocitarios del Sistema ABO y Rh

#### **4.1 Planteamiento del problema**

¿Cuál será la frecuencia de antígenos eritrocitarios del grupo sanguíneo ABO y el antígeno (D) en la etnia weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano?

#### **Objeto de estudio**

Antígenos eritrocitarios del Sistema ABO y Rh.

#### **Campo de acción**

Frecuencia de los antígenos eritrocitarios del grupo sanguíneo ABO y antígeno (D) en la etnia weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano.

#### **4.2 Justificación**

Se tiene información del sistema ABO de casi todas las poblaciones del mundo debido a su importancia transfusional. Estudios realizados en poblaciones, han demostrado que los Amerindios se caracterizan por un débil polimorfismo para muchos de los sistemas sanguíneos, en relación al sistema ABO se observa la mayor frecuencia poblacional de individuos pertenecientes al grupo O, sobre todo en su población multiétnica, razón por lo cual el presente estudio pretende aportar determinando la frecuencia de antígenos eritrocitarios del sistema ABO y Rh en la etnia Weenhayek o maticos, que viven en el margen derecho del río Pilcomayo, en el Chaco Boliviano, se escogió a esta etnia debido a las características de su forma de vida y la falta de información sobre la frecuencia de antígenos eritrocitarios del sistema ABO y sistema Rh, en esta población. Estos individuos constantemente están sometidos a las inclemencias de la naturaleza, y por las características de su hábitat se encuentran en peligro de extinción, hecho que exige contar con una información fehaciente sobre el polimorfismo en relación al sistema ABO y sistema Rh.

#### **4.3 Objetivos**

##### **General**

”Determinar la frecuencia de antígenos eritrocitarios del grupo sanguíneo ABO y antígeno (D), en la etnia weenhayek o maticos, asentada en el chaco boliviano Sucre 2010”

##### **Específicos**

- Tipificar el grupo sanguíneo ABO estableciendo su frecuencia en la población a estudiar.
- Caracterizar la distribución del grupo sanguíneo ABO según edad y sexo.

- Tipificar el antígeno (D), del sistema Rh, estableciendo su frecuencia en la población a estudiar.
- Caracterizar la distribución del antígeno (D), del sistema Rh según edad y sexo.

#### **4.4 Hipótesis**

Los antígenos eritrocitarios del sistema ABO y sistema Rh en la etnia Weenhayek o matacos, asentada en el Chaco Boliviano tiene un escaso polimorfismo, porque se trata de una etnia etnocéntrica

#### **4.5 Diseño Metodológico**

En el ámbito del diseño metodológico se utilizaron métodos y técnicas necesarias para el cumplimiento de los objetivos deseados, como son los métodos teóricos y empíricos.

Entre los métodos teóricos se utilizó, el método de análisis – síntesis permitió obtener las principales características teóricas sobre los antígenos eritrocitarios del sistema ABO y sistema Rh, así mismo otro de los métodos utilizados fue el inductivo- deductivo este método permitió también la interpretación de los resultados de laboratorio a partir del conocimiento general hacia lo específico, partiendo del estudio del conocimiento en el ámbito mundial sobre el sistema ABO y sistema Rh, para luego hacer el estudio específicamente en la localidad donde habita la etnia Weenhayek o matacos, asentada en el Chaco Boliviano.

Por otro lado se utilizaron métodos empíricos dentro de estos: la encuesta, mediante un cuestionario el cual fue dirigido directamente a la investigación, dicha encuesta se realiza en forma directa de acuerdo al problema planteado y tema de investigación presentado, el objetivo de la aplicación del cuestionario ha sido recabar datos fidedignos sobre edad y sexo, de los habitantes de la etnia Weenhayek o matacos, asentada en el Chaco Boliviano.

Así mismo se utilizaron técnicas de laboratorio, entre ellas se tiene dos técnicas de diagnóstico, la técnica en placa y la técnica en tubo.

El cuerpo de la tesis está estructurado por la introducción, en la que se presenta los lineamientos del trabajo de tesis, el capítulo I en el que se presenta el marco contextual el capítulo II donde se fundamenta teóricamente acerca de los sistemas ABO y Rh, un capítulo III, en el que se presenta el diseño metodológico para lograr el objetivo general, un capítulo IV donde se presenta los resultados de la presente investigación y finalmente se tiene las conclusiones y recomendaciones.

#### **4.6 Marco Contextual**

##### **Situación general de Bolivia**

Bolivia es un estado plurinacional, ubicado en la parte central de Sud América, con una división política en 9 gobernaciones, distribuidos en tres regiones claramente definidas: llanos, altiplano y valles.

Tiene una población de 8.274.325 de acuerdo al último censo (2001), donde un 31% de la población se auto identifica como Quechua, un 25% como Aymará, 6% como Guaraníes o perteneciente a alguno de los 32 grupos étnicos minoritarios, demostrando la gran diversidad étnica que presenta Bolivia.

El 60% de la población es menor de 25 años y sólo el 7% es mayor de 65 años, la esperanza de vida al nacer, para ambos sexos, es de 63.6 años. En el periodo 2000 -2005, la tasa bruta de mortalidad estimada es de 8.2 muertes por mil habitantes (INECELADE 2004). i

## **Sistema de salud en Bolivia**

El sistema de salud boliviano comprende los sub sectores: público, de seguridad social, privado y la medicina tradicional.

El sistema de salud consigna cuatro niveles de gestión y tres niveles de atención. Los niveles de gestión responden a las dimensiones: nacional, departamental, municipal y local o del establecimiento de salud. Los niveles de atención están estructurados según la capacidad resolutoria de los servicios, el primer nivel de atención corresponde a la atención ambulatoria, el segundo nivel de atención con hospitales generales (especialidades básicas) y el tercer nivel de atención con hospitales de especialidades. El año 2002 se registraron 3021 establecimientos en el sistema de salud, 2345 pertenecientes al sector público, 324 a la seguridad social, 173 a organizaciones no gubernamentales (ONG) incluida la Iglesia y 179 a establecimientos registrados del sector privado.

## **Chuquisaca**

El departamento de Chuquisaca se halla situado al Sur del Estado Boliviano, en la región subandina, región intermedia entre el altiplano y los llanos orientales. Chuquisaca tiene un clima templado en los valles del norte, centro y sudoeste y un clima cálido en los chacos, situados en las zonas del noreste y este del departamento.

De acuerdo al censo del año 2001, la población de Chuquisaca alcanzó a 531.522 habitantes, distribuidos, en área urbana el 41.04% y en área rural el 58.96%, con una densidad poblacional de 10,32 habitantes por km<sup>2</sup>, superior a la densidad poblacional nacional. El 53,70% de los habitantes en Chuquisaca es menor de 21 años de edad, la población adulta que oscila entre 21 y 64 años corresponde a 40,28%, mientras que la población adulto mayor es de 6,02%.

En cuanto a los establecimientos de salud el 2001 Chuquisaca contaba con 296 establecimientos; 83,78% correspondía al sub sector público y el restante 16,22% a establecimientos dependientes de la Seguridad Social, Organismos Privados y Organismos No Gubernamentales en todos los niveles de atención.

El departamento de Chuquisaca tiene una extensión 51.524 Km<sup>2</sup>. Está situado al centro del macizo escalonado. En medio del macizo se encuentran tres peldaños decrecientes:

- La zona montañosa de la puna y de los valles.
- La zona sub andina.
- La zona del Chaco.

La geografía del Chaco boliviano ocupa el declive último de los andes hacia las planicies, que va al mar atlántico. Prácticamente la región es una secuencia de serranías intercaladas por llanos, rinconadas y quebradas. Por éstas corren riachuelos que, en los meses de lluvia, llevan sus aguas a los tres grandes ríos: el Guapay (Río Grande), el Parapetí o (Condorillo) y el Pilcomayo. El primero va hacia la amazonia, el segundo se pierde en las arenas del Izozo y el otro afluente del Paraguay.

La parte del Pilcomayo presenta colonias, bosques y cultivos agrícolas; lo mismo en la línea centra, entre Cuevo y el Ingre.

De los ríos que bañan este territorio, es de interés el río Pilcomayo que nace en el sudeste de Oruro con el nombre de río Pampa Rancho. En su curso superior sirve de límites con Potosí; posteriormente cruza en forma diagonal separando las provincias cinteñas.

Dentro de la zona del Chaco Boliviano se encuentran tres pueblos de cultura nativa antigua, los Tobas, Matacos y Chiriguano; pertenecientes a familias lingüísticas bastante extendidas. 34

### **Población Weenhayek**

En la Zona del Chaco Boliviano y limitante con Argentina se encuentra una población de 2020 originarios los Weenhayek distribuidos en toda la zona de la región Chaqueña, entre las comunidades de Capirendita, San Antonio Quebrachal, Algarrobal, San Bernardo, Villa Esperanza, etc. Esta comunidad vive a las orillas del río Pilcomayo, su lengua no se encuentra clasificada y ellos todavía la hablan.

Los Weenhayek migran, para sobrevivir, en busca de empleos, de tierras cultivables y aprovechamiento de los recursos naturales renovables.

Las migraciones fuera del área no son significativas, por lo tanto no afecta en proporciones relevantes a la población origen y residente en la región.

La organización social básica de los Weenhayek está estructurada sobre las relaciones de parentesco, a pesar del carácter étnico que tiende al individualismo. Dentro de la etnia son endógamos, de modo que casi todos son parientes en algún grado. La familia como unidad básica está conformada por los padres, los hijos solteros y los casados con sus cónyuges. El padre es el dueño (lewúk) de la unidad doméstica; los hijos y los yernos son ayudantes (lakaós), mientras que entre sí son compañeros (kalayis). El yerno o el hijo casado sólo se convierten en lewúk cuando construye su propia casa. La mujer y la madre es poco menos que una sierva, por la cantidad de trabajo que se descarga sobre ella, pero más por el modo despectivo con el que el varón trata a las mujeres en la vida social, aunque en los hogares suelen ser afectuosos.

Los padres prefieren hijos, pero ello no significa un rechazo a las mujeres, sino que los varones desde la infancia ayudan al padre en las principales actividades económicas. Los hijos varones gozan desde pequeños de mucha libertad que con los años aumenta.

Por otro lado, el ser dueño, no tiene la significación que se le da al término en la cultura occidental, de ahí que los hijos pueden obedecer al padre si quieren o no. El mantenimiento de la endogamia étnica, pero lógicamente con exogamia intercomunal, ha sostenido la resistencia de la aculturización, ancianos Weenhayek cuentan que se castigaba duramente, se los enterraba vivos, a quienes establecían uniones matrimoniales con individuos de otros pueblos. En sus relaciones sociales, establecen un orden jerárquico, que expresa un juicio de valor respecto a los otros. A pesar de su apariencia, los hombres no son iguales y existe un orden de relación hacia ellos:

- Primero: Mi familia próxima (padres, esposa, hijos, nietos y otros). Asentada en la misma comunidad
- Segundo: Mi familia geográficamente extendida en diferentes comunidades

- Tercero: Todos los habitantes de la Comunidad
- Cuarto: Todos los Weenhayek
- Quinto: Todos los noctene
- Sexto: Todos los matacos mak 'a
- Séptimo: Todos los indígenas asentados en el chaco
- Octavo: Todos los extraños.

Este orden de prioridades expresa un fuerte etnocentrismo que suele aparecer en sus múltiples manifestaciones de superioridad respecto a los otros grupos del Chaco e incluso con relación a mestizos y blancos. Ya sea porque viven relativamente aislados, por su homogeneidad cultural o por sus marcados lazos de parentesco, lo evidente es que la etnia tiene una gran cohesión y una fuerte solidaridad interna.

Su religión tradicional era animista y muy ritualizada. Dentro de su infraestructura cuenta con ambientes de segundo y tercer nivel, en algunas comunidades viviendo cercados entre animales de crianza. La actividad económica Weenhayek se basa en la pesca y como actividades secundarias desarrollan la recolección de frutos silvestres, miel; forestal, venta de fuerza de trabajo y la caza.

Otra actividad económica importante para los Weenhayek es la artesanía tradicional, fabrican en hoja de palma, fibra de carahuata y madera. La zona en la que se encuentran son extensas, llanura boscosa, tierras degradadas, bosques pobres, con escasos ríos por la sequedad del medio ambiente, pero en época de lluvias éstos, se expanden en cuencas de inundación. Son tierras de poca altitud y gran horizontalidad; cruzan el territorio Weenhayek los ríos Bermejo, Pilcomayo y Villamontes. La temperatura media anual es de 25 °C; la precipitación media anual es de 850 mm., con seis meses muy secos.

Los problemas ambientales que confrontan los Weenhayek son: la contaminación del Río Pilcomayo con desechos tóxicos que provienen de las cabeceras del río en las regiones mineras de Potosí, donde las grandes empresas privadas realizan explotaciones de minerales; las prospecciones petroleras; el desmonte sin control y las prácticas agropecuarias inadecuadas afecta gravemente al ecosistema de la zona. 35

#### **4.7 Marco teórico**

##### **Sangre**

La sangre es un tejido líquido con un pH de 7,35-7,45 que recorre el organismo transportando células, y todos los elementos necesarios para realizar sus funciones vitales (respirar, formar sustancias, defenderse de agresiones) y todo un conjunto de funciones muy complejas y muy importantes para la vida, lo realiza por un sistema vascular formado por vasos sanguíneos de diverso calibre. (6) (15)

La sangre tiene una composición muy compleja: contiene 55% de plasma y un 45% de elementos formes: estas células son de tres tipos: eritrocitos, leucocitos y plaquetas, y todas ellas tienen su origen en una única célula pluripotente (célula madre) situada en el tejido hematopoyético de la médula ósea.

## Glóbulo rojo

El nombre eritrocito deriva del griego  $\epsilon\rho\upsilon\theta\omicron\varsigma$  erythros ('rojo') y el español -cito, 'trozo de célula', que proviene de  $\kappa\upsilon\tau\omicron\varsigma$  cytos ('cavidad o recipiente hueco').

Los glóbulos rojos son los más numerosos de todas las células sanguíneas que hay en la sangre. En el cuerpo de un adulto se producen de 4 a 5 billones de glóbulos rojos, célula que presenta importantes diferencias con respecto a otras células del organismo. En primer lugar, no tiene núcleo, por lo que le falta la capacidad de división y tienen su origen en la célula stem de la médula ósea, perdiendo el núcleo antes de ser liberado a la circulación, tampoco tiene mitocondrias o ribosomas, ni ADN o ARN. No obtiene energía del ciclo de Krebs y no tiene un sistema de transporte de electrones para la fosforilación oxidativa. A pesar de estas deficiencias el glóbulo rojo es una célula compleja y metabólicamente activa cuya vida media es de alrededor de 120 días y cuando mueren, son sacados de la circulación por el bazo.

La función de los glóbulos rojos es absorber oxígeno de los pequeños alvéolos que se encuentran en los pulmones y llevarlo a todos los músculos, tejidos y órganos del cuerpo.

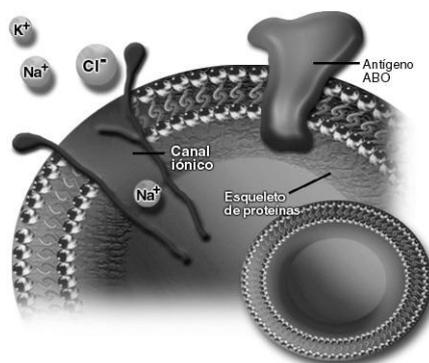
## Membrana del glóbulo rojo

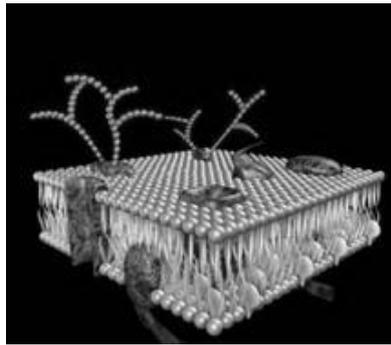
La estructura de la membrana del glóbulo rojo le confiere gran plasticidad (puede atravesar capilares menores a su tamaño sin distorsionarse). Cuando se observa el movimiento de los glóbulos rojos en los vasos pequeños por medios de cinemicrografía se ve que el plano del disco se orienta en dirección de la corriente, la parte que avanza se aguza y la posterior se redondea, semejando un paracaídas. De ese modo puede atravesar capilares de 4 micrones.

## Ultraestructura

En los cortes delgados de la membrana eritrocitaria se distinguen tres capas: dos electrodensas de 2.5nm (25  $\text{Å}$ ) de espesor, separadas por otra transparente de 2 nm, sumando 7nm. Las bandas electrodensas representan a las proteínas o los extremos polares de los fosfolípidos.

**Figura 4** Ultraestructura



**Figura 4.1** Ultraestructura

### Composición química

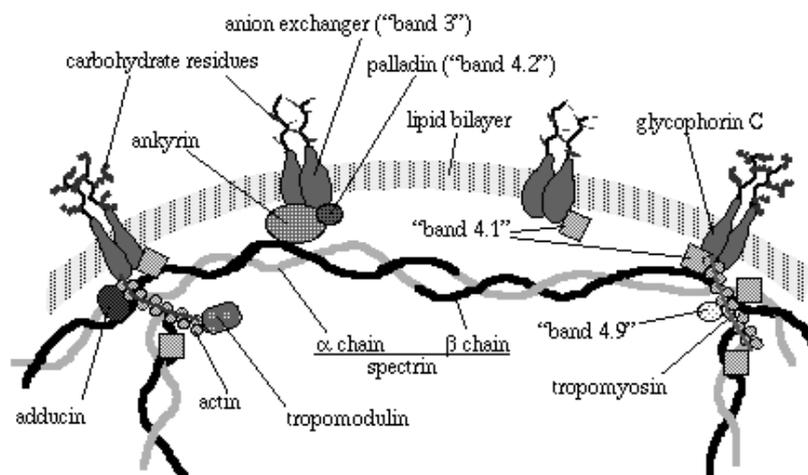
La composición química de la membrana comprende: 10% de carbohidratos, 40% de lípidos y 50% de proteínas. 32

### Lípidos de la membrana

Son responsables en parte de sus características físicas, flexibilidad mecánica y permeabilidad pasiva a los cationes. Los fosfolípidos y el colesterol no esterificado constituyen el 95% del total de lípidos de la membrana y el restante constituida por glucolípidos. En la matriz lipídica se insertan las proteínas. Tanto proteínas como lípidos se mueven lateralmente de manera libre dentro del plano de la membrana.

### Proteínas de la membrana

Son de dos tipos: proteínas integrales y proteínas periféricas.

**Figura 4.2** Proteínas de la membrana

### Proteínas integrales

La coloración con ácido periódico permite visualizar 4 bandas, que son monómeros o dímeros de dos glucoproteínas (glicoforina A y glicoforina B).

La glicoforina A representa el 75% y contiene en su cadena 60% de oligosacáridos. Son tetrasacáridos con una glicosilación importante. Las dos fracciones de ácido siálico de cada uno de los oligosacáridos son los que determinan el 60% de la carga negativa de los eritrocitos. Los otros dos componentes son N-acetil-galactosamina y una galactosa.

La glicoforina B proviene de un gen ancestral único, común a la glicoforina A con la que presenta bastante homología. La banda 3 es la proteína del intercambio aniónico.

### **Proteínas periféricas**

Representan el 35% de las proteínas totales de la membrana constituidas por espectrina, que es la principal proteína periférica; actina (forma el citoesqueleto); la proteína 4,1 que interviene en la estructura del eritrocito y estabilidad de la membrana; la ankyrina-sindeneína es una proteína que sirve como anclaje del citoesqueleto a la membrana.

### **Grupos sanguíneos**

Los grupos sanguíneos son características inmunoquímicas presentes en la membrana de los glóbulos rojos de algunos miembros de la especie y ausentes en otros, son el producto directo o indirecto de la actividad de los genes y se transmiten hereditariamente según leyes mendelianas.

Los grupos sanguíneos caracterizan de forma permanente a los individuos, se nace y se muere con ellos.

**Tabla 4** Principales sistemas antigénicos

Sistema	Símbolo (ISBT)	No. Antígenos	Antígenos Principales
ABO	ABO	4	A, B, AB1, AI
MNSs	M,N,S,	38	M, N, S, s, u, Ena
P	P	1	P1
Rh	RH D,C,E,c,e	45	D,C,E,c,e
Lutheran	LU	18	Lua, Lub, Luab, Lu4
Kell	KEL	21	K,k, Kpa, Kpb, Jsa
Lewis	LE	3	Lea, Leb, Leab
Duffy	FY	6	Fya, Fyb, Fy3, Fy4
Kidd	JK	3	Jka, Jkb, Jkab
Diego	DI	4	Dia, Dib, Wra, Wrb
Cartwright	YT	2	Yta, Ytb
Xg	XG	1	Xga
Sciana	SC	3	Sm, Bu3, SC3
Dombrock	DO	5	Doa, Dob, Gya, Hy, Joa
Colton	CO	3	Coa, Cob, Coab
Land Wiener	LW	3	Lwa, LWb, Lwab
Chido Rogers	CH/RG	9	Ch1, Ch2, Ch3, Rg1, Rg2, WH
Hh	H	1	H
Kx	XK	1	Kx
Gerbich	GE	7	Ge2, Ge3, Ge4, Wb
Cromer	CROM	10	Cra, Tca, Tcb, Tcc, Dra.
Knops	KNOPS	5	Kna, Knb, McCa, SIa, Yka
Indian	IN	2	Ina, Inb

**Antígenos (Ag)**

Se entiende por antígeno a toda sustancia con capacidad de generar una respuesta inmune. Prácticamente cualquier tipo de molécula biológica incluyendo azúcares, lípidos, hormonas, metabolitos intermediarios, carbohidratos complejos, fosfolípidos, ácidos nucleicos y proteínas pueden ser antígenos.ii

**Anticuerpos (Ac)**

La molécula de inmunoglobulina destinada al antígeno se denomina anticuerpo. Todos los anticuerpos son inmunoglobulinas y se hallan en la fracción de las globulinas plasmáticas.

Las inmunoglobulinas son elementos fundamentales en cada etapa de una respuesta inmunitaria humoral. Las inmunoglobulinas secretadas como resultado, funcionan entonces como anticuerpos, desplazándose a través de líquidos de los tejidos para buscar y fijar antígenos específicos que desencadenaron su producción. Las dos características fundamentales de las inmunoglobulinas como proteínas fijadoras de antígeno son la especificidad de cada una de ellas para una estructura antigénica particular, y su diversidad como grupo.

### **Organización y diversidad de las inmunoglobulinas**

Las inmunoglobulinas son una familia enorme de glucoproteínas relacionadas, pero no idénticas. Se estima que cada persona tiene la capacidad de producir cuando menos 10<sup>8</sup> moléculas de anticuerpos distintas, cada una con sus propiedades distintivas propias. Si bien los carbohidratos pueden representar hasta quinta parte de la masa de los anticuerpos, casi todos los atributos biológicos significativos se determinan por sus componentes polipeptídicos.

### **Unidad básica de cuatro cadenas**

Cada molécula de inmunoglobulina está constituida por la asociación de cuatro cadenas polipeptídicas unidas entre sí por fuerzas no covalentes y puentes disulfuro, dos cadenas se denominan pesadas H (heavy) y las otras dos ligeras L (light). A su vez, cada una de las cadenas ligeras y pesadas, incluye una región variable, cuya secuencia de aminoácidos es peculiar de cada anticuerpo, y una región constante, con la misma secuencia en todos los anticuerpos. Todas las inmunoglobulinas se conforman con esta estructura básica, aunque algunas están constituidas por más de una de estas unidades.

Cada unidad básica contiene dos sitios de unión de antígeno, por lo que se dice es divalente con respecto al enlace de antígenos.

La inmunoglobulina tiene una configuración en forma de T o Y cuando se observa esquemáticamente.

Las características de la cadena H determinan la clase de la inmunoglobulina: por tanto, hay cinco clases: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE.

Las inmunoglobulinas que tienen mayor relación con las interacciones inmunes de los grupos sanguíneos son la IgG y la IgM.

#### **a) IgM**

Tiene 20 cadenas de aminoácidos, 10 son pesadas y 10 son livianas. La IgM tiene una vida media de 10 días. Constituye el 8% de las inmunoglobulinas totales. Su P.M. es de 900000. No provocan la enfermedad hemolítica del recién nacido debido a que la placenta carece de receptores para la IgM.

Aglutinan con facilidad a los eritrocitos suspendidos en solución salina. Durante la reacción antígeno-anticuerpo pueden activar el complemento y producir hemólisis de los glóbulos rojos.

Los anticuerpos naturales o aglutininas pertenecen a este tipo de Ig. Aparecen a los 3-6 meses en los lactantes. Las personas del grupo A presentan en el suero anti-B o  $\beta$  y las del grupo B, anti-A o  $\alpha$ , las del grupo AB no presentan anticuerpos en el plasma, en cambio las del grupo O tienen ambos anticuerpos ( $\alpha$  y  $\beta$ ). En anti-AB del grupo O es un tercer anticuerpo que presenta una reacción cruzada con un antígeno presente en los eritrocitos A y B. Se denomina AB o C.

A pesar de que los anticuerpos del sistema ABO se consideran naturales, se supone que su aparición se debe a la estimulación producida por antígenos vegetales y bacterianos que tienen una estructura química similar a los antígenos de grupo sanguíneo y que han ingresado al organismo desde las primeras etapas de la vida.

### **b) IgG**

Constituyen el 73% de las inmunoglobulinas totales. Tienen un P.M. 150.000.

La sobrevivencia de la IgG es de 60-70 días.

Se producen anticuerpos IgG: anti-A o anti-B por incompatibilidad transfusional, feto-materna o por trasplantes. Atraviesan la placenta porque la misma tienen receptores para IgG produciendo la destrucción de eritrocitos fetales (enfermedad hemolítica del recién nacido).

La exposición a un antígeno por vez primera determina una respuesta inmune primaria. En esta hay niveles bajos de IgM. La respuesta secundaria es la respuesta al segundo contacto con el mismo antígeno. Se sintetiza cantidades importantes de anticuerpos y predomina la IgG.

Hay diferencia en el comportamiento de los anticuerpos IgM e IgG. Los primeros exhiben 10 puntos de combinación antigénica. Pueden sensibilizar y aglutinar de manera directa. Los anticuerpos IgG no aglutinan, recubren y sensibilizan a los eritrocitos. Para conocer si este paso se produjo se requiere otros métodos.

### **Sistema ABO**

En el año 1900 Karl Landsteiner descubrió los grupos sanguíneos y los procedimientos de laboratorio para determinarlos. Testó muestra de sueros individuales con eritrocitos de personas diferentes. Observó que algunas combinaciones presentaban aglutinación y otras no. En base a estos hallazgos clasificó a la sangre en A, B y O, pero predijo la posibilidad de un cuarto grupo. En 1902, discípulos suyos, Dcastello y Sturli hallaron el grupo AB. De este modo se había descubierto el primer sistema de grupos sanguíneos con gran significación clínica.

En este sistema los anticuerpos antitéticos se hallan en el suero de las personas normales que no han sido expuestas a glóbulos rojos humanos.

### **Genética del sistema ABO**

La herencia de los grupos sanguíneos ABO se realiza de acuerdo con la ley Mendeliana de la alelia múltiple y está vinculada a tres alelos independientes denominados A, B y O ubicados en el locus ABO de dicho sistema.<sup>iii</sup> El grupo ABO corresponde a la presencia de los genes alelos A y B. Un hombre AB casado con una mujer O tendrá solamente hijos A y B, pero nunca un hijo AB.

Algunos antígenos de los grupos sanguíneos, como el Rh, son proteínas producidas directamente por sus genes en el eritroblasto. En cambio los genes del grupo sanguíneo ABO no codifican directamente sus antígenos específicos, sino que producen enzimas glucosiltransferasas. Estas enzimas transfieren azúcares específicos, a cadenas precursoras de carbohidratos.

El antígeno H se origina a partir de la enzima glicosiltransferasa  $\alpha$ -2-L-fucosiltransferasa que dona el azúcar GDP-fuc y el azúcar inmunodominante es la L-fucosa. De igual manera el antígeno A con la glicosiltransferasa  $\alpha$ -3-N-galactosaminiltransferasa, siendo el azúcar donado el UDP-Gal NAc y el azúcar inmunodominante es el N-acetil-galactosamina. También para el antígeno B con su enzima  $\alpha$ -3-d-galactosiltransferasa y el azúcar donado UDP-Gal y como azúcar inmunodominante la D-Galactosa.

Estos genes son heredados en una forma codominante desde ambos alelos A y B. Los genes A y B son alelos que se repelen entre sí durante la meiosis y representan alternativas de genes localizados en el mismo Locus, en cromosomas homólogos. El locus ABO se encuentra en el brazo largo del cromosoma 9 y está íntimamente ligado al locus de la enzima adenilquinasa del glóbulo rojo. Se han encontrado múltiples alelos del locus ABO. Los cuatro alelos principales son: A1, A2, B y O. Han sido identificados numerosas variantes raras de alelos genéticos A y B que son genes alternos o sustitutos, responsables de algunas reacciones débiles de los fenotipos A y B. El gen O representa un gen amorfo o silente que no produce ninguna expresión antigénica. La herencia de una doble dosis del gen O es generalmente equivalente al término rasgo recesivo, en genética de los grupos sanguíneos.

Se considera que el gen O no es funcional porque la proteína que produce no determina ningún antígeno de grupo sanguíneo. A los eritrocitos de las personas del grupo O les faltan los antígenos A y B, pero portan una cantidad abundante de antígeno H, el precursor material sobre el cual se constituyen los antígenos A y B.

El locus ABO alcanza aproximadamente un tamaño de alrededor de 18 kilo bases y consiste en 7 exones, que presentan un tamaño desde 26 a 688 pares de bases, cada uno, la mayoría de las secuencias que originarán los epitopes antigénicos específicos codifican. Exon 7.7.

El ADNc codificante para las transferasas del grupo A y del grupo B consiste aproximadamente de 1062 pares de bases y codifica para proteínas de 353 aminoácidos. Se sabe que sólo cuatro aminoácidos difieren entre las transferasas de los grupos A y B. Estas diferencias se presentan en los aminoácidos 176, 235, 266 y 268. Investigaciones recientes hallaron que las sustituciones de los aminoácidos en las posiciones 266 y 268 eran críticas en la determinación de la especificidad. El gen de la transferasa O difiere del gen de la transferasa del grupo A en solamente el nucleótido 258. La citosina 258 ha sido delecionada para el gen de la transferasa del grupo O. Esta deleción única en el gen O desplaza el marco de lectura para producir un codón de detención prematuro en los nucleótidos 349-351, lo cual da lugar a una proteína truncada sin actividad de transferasas. Así, de los tres genes primarios del sistema ABO, dos son funcionales y uno determina un producto no funcional.

### **Antígenos (Ag) del sistema ABO**

El sistema del grupo sanguíneo ABO está constituida por los epitopes antigénicos A y B y los anticuerpos naturales contra estos antígenos en suero.

La expresión de estos antígenos A y B esta codificada por los alelos A y B en el locus ABO ubicado en el cromosoma 9.

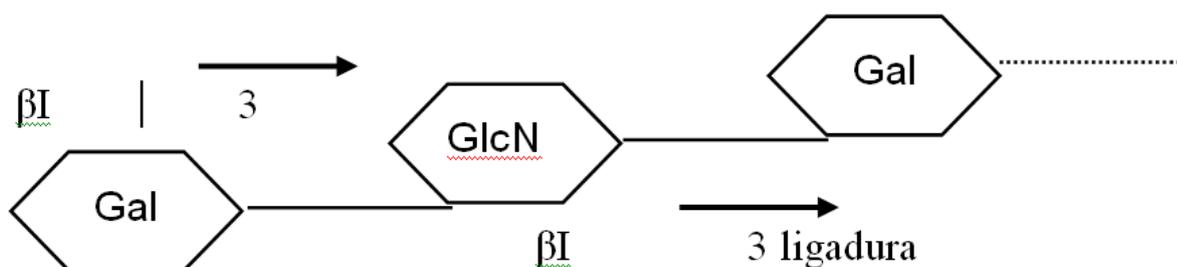
Los antígenos A y B fueron inicialmente identificados sobre las células de los glóbulos rojos humanos, no obstante ellos fueron también hallados en las secreciones y sobre la superficie de células epiteliales y endoteliales. Además de encontrarse en la raza humana, similares estructuras antigénicas fueron también identificadas en una variedad de microorganismos, incluyendo microbios y plantas.

Los hematíes de las personas del grupo O carecen de antígenos A y B, pero presentan los antígenos H precursores de los A y B. Esta hipótesis fue posteriormente demostrada como correcta.

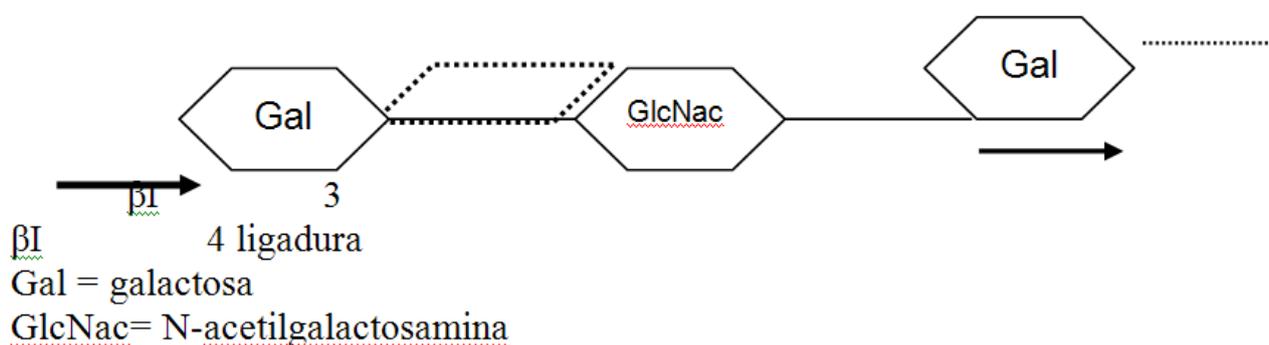
### Estructura de la cadena básica precursora de los antígenos

Las glucosiltransferasas A y B agregan glúcidos específicos a las cadenas de oligosacáridos transformadas en antígenos H, por acción de la fucosiltransferasa derivada del gen H. Los antígenos A, B y H se construyen en cadenas oligosacaridas de cuatro tipos (1 a 4), que difieren en la unión de la beta-Dgalactosa (Gal) Terminal, La N-acetilgalactosamina (GlcNAc) y en las características intrínsecas de la cadena de carbohidratos. Las formas más abundantes son las cadenas de tipo 1 y 2. En las primeras, el carbono 1 de la Gal se une al 3 de la GlcNAc; en las segundas el aceptor de Gal es el carbono 4 de la GlcNAc.

**Figura 4.3 Estructura de Tipo 1**



**Figura 4.4 Estructura de tipo 2**



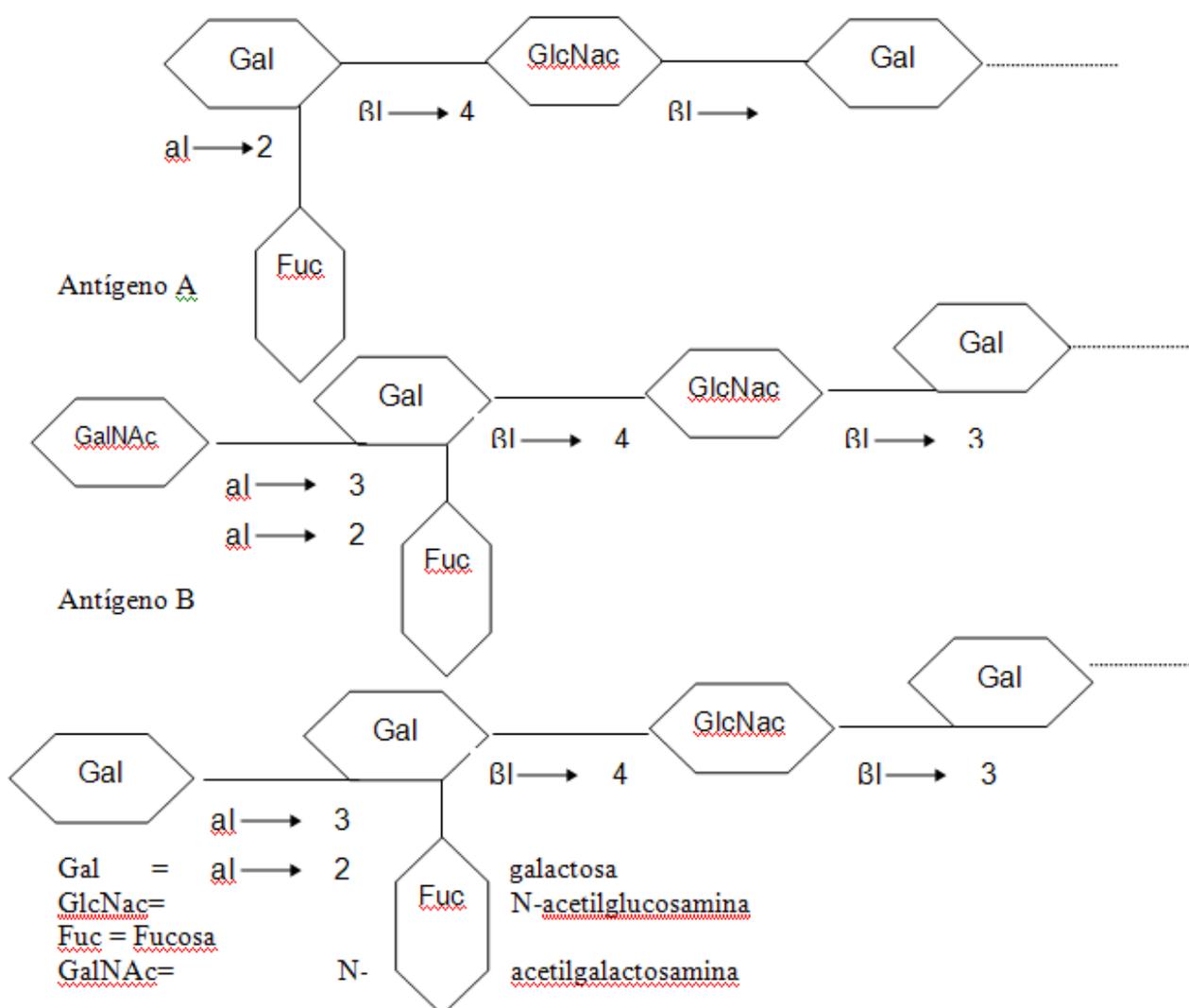
Los oligosacáridos de tipo 1, con actividad A, B, y H, se distribuyen en todo el organismo.

Los glucolípidos de tipo 1 (A, B y H) se detectan en plasma y tejidos derivados del endodermo como el epitelio intestinal. Las glicoproteínas con cadenas de tipo 1 aportan actividad A, B y H a los líquidos corporales y secreciones. Los oligosacáridos de tipo 1 no fijados se detectan en la leche y orina. Las glicoproteínas 1 y 2 son antígenos A, B y H se encuentran en la saliva.

Los antígenos A, B y H de la superficie eritrocitaria se forman en las cadenas de tipo 2 presentes en los oligosacáridos muy ramificados de las proteínas integrales de la membrana, en especial las bandas 3 y 4,5 y en los oligosacáridos de tipo 2 unidos a glucolípidos. Se presume que en un número de puntos A, B y H eritrocitarios potenciales supera los dos millones.<sup>iv</sup>

El gen H produce una transferasa que añade fucosa al carbono 2 de la galactosa terminal de las cadenas de tipos 1 y 2.

**Figura 4.5** Antígeno H



Las transferasas de los genes A y B solo pueden fijar sus glúcidos inmunodominantes al carbono 3 de la misma galactosa cuando ya existe fucosa, es decir cuando la molécula central se convirtió en sustancia H. La ligadura de los glúcidos determinantes de los antígenos A y B disminuye la detección serológica de los H la expresión de los antígenos A o B guardan una proporción inversa.

En cuanto a los subgrupos ABO, son fenotipos que difieren en la concentración de los antígenos en los glóbulos rojos y la saliva de los secretores; son productos de glucotransferasas menos efectivas. Los subgrupos A son más comunes que los B. Los dos principales subgrupos A son los A1 y A2. La distinción serológica de las células A1 y A2 se logra mediante pruebas que utilizan lectinas de semillas de *Dolichos biflorus*. Los subgrupos B son menos comunes que los A.

Para clasificarlos se usan los mismos criterios que para el grupo A. El uso de los reactivos monoclonales anti-A y anti-B disminuyó el número de subgrupos A o B. Los anticuerpos se eligen por su capacidad para aglutinar las células con expresión antigénica débil.

A las 5 semanas de gestación aparecen los antígenos del sistema ABO y su potencia aumenta con el desarrollo. En el comienzo de la vida postnatal las interacciones antígeno-anticuerpo son débiles, los sitios antigénicos son escasos y el título del anticuerpo es bajo.

Los antígenos o aglutinógenos del sistema ABO son el A y el B. En 1911 se descubrieron subgrupos del A (A1 y A2) los cuales originaron los subgrupos del AB (A1 B y A2 B).

El 80% de las personas del grupo A son A1, el 20% restante A2.

### **Anticuerpos (Ac) del sistema ABO**

En general, las personas poseen anticuerpos dirigidos contra los antígenos A o B ausentes en sus glóbulos rojos. Esta relación complementaria previsible permite efectuar la tipificación ABO en suero o glóbulos rojos.

Una de las hipótesis que explica el desarrollo de estos anticuerpos se basa en que las configuraciones responsables de las especificidades A y B de la membrana eritrocitaria también existen en otras entidades biológicas, en particular en las paredes celulares bacterianas. La distribución de las bacterias muy amplia y su presencia en la flora intestinal, el polvo, los alimentos y otros sustratos asegura la exposición constante de todas las personas a estructuras antigénicas de tipo A y B. Los individuos inmunocompetentes reaccionan contra los antígenos ambientales produciendo anticuerpos contra aquellos ausentes en su propio organismo. Así, las personas del grupo O y B sintetizan anticuerpos anti-A y los individuos del grupo O y A, anti-B.

Las personas del grupo AB, que exhiben, que exhiben ambos antígenos, no generan ningún tipo de anticuerpos. Los anticuerpos anti-A y anti-B se detectan en suero después de los primeros meses de vida.

En ocasiones algunos lactantes producen estos anticuerpos desde el momento del nacimiento, pero la mayor parte de ellos presentes en sangre de cordón es de origen materno. La síntesis de anticuerpos, alcanza los niveles del adulto a los 5-10 años y en las etapas tardías de la vida, declina.

Las personas de la edad avanzada poseen concentraciones de Anti-A y anti-B más bajas que los adultos jóvenes. La búsqueda de Anti-A y anti-B en el suero de los recién nacidos y lactantes menores de 4-6 meses no es válida, porque algunos o todos los anticuerpos derivan de la transferencia placentaria de IgG Anti-A y anti-B maternas.

Las inmunoglobulinas anti-A predominantes en los individuos del grupo B, y anti-B en los del grupo A, son IgM, aunque también se observan cantidades de IgG. Las IgG son Anti-A y anti-B predominantes en el suero del grupo O. Como la IgG atraviesa la placenta con facilidad y la IgM no, en los hijos de madres del grupo O el riesgo de enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) es mayor que en los hijos de madres de grupo A o B.

Las características que permiten diferenciar entre los Anti-A y anti-B de clase IgG e IgM son:

El tratamiento con enzimas de los glóbulos rojos intensifica la reacción tanto de anticuerpos de clase IgM como IgG.

El tratamiento con 2mercapto-etanol o ditioneitol inactiva los anticuerpos de clase IgM, mientras que los de clase IgG no se modifican.

Las inmunoglobulinas de clase IgM son inhibidas por antígenos A o B solubles, mientras que las IgG no se modifican.

Entonces podemos decir que las dos inmunoglobulinas aglutinan los glóbulos rojos en forma preferencial a temperatura ambiente (20-24°C) o menos y activan el complemento a 37°C. Su capacidad lítica es mediada por complemento y se manifiesta cuando las pruebas incluyen una fase de incubación a 37°C. Aunque debemos tener en cuenta que los sueros de algunas personas hemolizan los eritrocitos ABO incompatibles a temperaturas inferiores a 37°C. Cuando el sobrenadante del suero es coloreado o el sedimento celular es escaso o nulo, estamos en presencia de una hemólisis por anticuerpos ABO. La hemólisis debe interpretarse como un resultado positivo.

Como esta mediada por complemento, si se suspenden los glóbulos rojos con EDTA u otros agentes que previenen su activación no ocurre.

### **Anticuerpos Anti-A, B en suero de grupo O**

El suero de los individuos del grupo O contienen anticuerpos denominados anti A,B porque reaccionan con los glóbulos rojos A y B y las especificidades Anti-A y anti-B no pueden separarse por adsorción diferencial. Cuando se incubaba suero del grupo O con células del grupo A o B, los eluatos exhiben reactividad contra los eritrocitos A y B. La saliva de los secretores de sustancia A o B inhibe la actividad de estos anticuerpos contra los glóbulos rojos A o B.

El suero del grupo O se emplea para preparar reactivos de tipificación potentes, capaces de aglutinar los glóbulos rojos A y B. Las mezclas que contienen anticuerpos monoclonales también aglutinan las células A y B. v Cualquier versión de anti-A, B distingue los eritrocitos del grupo O, de los pertenecientes a los otros tres grupos. Los anti-A,B de anticuerpos monoclonales podrían reaccionar tanto o más con los glóbulos rojos de fenotipos A débiles, que los anti A, B policlonales humanos. Algunos reactivos monoclonales son mezclas de Anti-A y anti-B, denominadas Anti-A y anti-B, mientras que otros incluyen Anti-A y anti-B y un tercer clon Anti-A,B y se las llama anti-A,B.

### **Anticuerpos anti-A1**

En los estudios de adsorción simple, los anticuerpos Anti-A del grupo B parecen contener anti-A y anti-A1 separables. El suero del grupo B aglutina los glóbulos rojos A1 y A2; después de la adsorción con células A2, sólo reacciona con la A1. No obstante si se efectúan pruebas adicionales, las diferencias en la expresión de los antígenos A entre células A1 y A2 parecen ser más cuantitativas que cualitativas. En ocasiones se encuentra anti A1 en el suero de personas con fenotipo A2 u otros subgrupos A.

Los reactivos Anti-A obtenidos de la lecitina de *Dolichus Biflorus*, reaccionan con los eritrocitos A1 y A2, pero diluidos en forma apropiada no aglutinan las células A2, por lo tanto, constituyen un Anti-A1.

## Anticuerpos Anti-B

Los anticuerpos Anti-B se encuentran en el suero de las personas del grupo A. El suero de personas de algunos subgrupos B podría contener anti-B reactivos de débiles a potentes. También podrían detectarse anti-B en el suero de personas con fenotipo cis AB, circunstancia excepcional en la cual los antígenos A y B parecen heredarse en el mismo cromosoma. Además, los individuos con antígeno B adquirido, tienen anti-B en el suero por que los antígenos B eritrocitarios resultan de la desacetilación transitoria in vivo de los antígenos A.

## Sistema Rh

Es un sistema complejo y algunos aspectos genéticos y de interacciones antigénicas están aún en estudio. Es el segundo en importancia en la práctica transfusional.

Levine y Stetson en 1939 comunicaron el primer caso de anticuerpos anti-D que hallaron en el suero de una mujer que presentó una reacción hemolítica postransfusional luego de recibir sangre de su marido, y cuyo feto tuvo enfermedad hemolítica neonatal. En 1940 Landsteiner y Wiener describieron un anticuerpo obtenido de la inmunización de cobayos y conejos con eritrocitos de monos Rhesus. El anticuerpo aglutinaba los eritrocitos del 85% de los humanos estudiados.

## Genética del Sistema Rh

Actualmente se considera que dos loci estructurales estrechamente ligados en el cromosoma 1 determinan la producción de antígenos Rh, que son polipéptidos no glicosilados. El gen Rh D determina la presencia de una proteína de la membrana con actividad D en el eritrocito. Las personas D positivas deben tener uno de los dos ejemplares de este gen. Los individuos D negativos no tienen material genético en este sitio, nunca se halló el antígeno d. En otro locus adyacente el gen RHCE determinan los antígenos C, c, E y e. Sus alelos son RHCE, RHCE, RhcE y Rhce. Hay evidencia de que C/c y E/e residen en un solo producto polipeptídico.

## Química

Los antígenos del sistema Rh son proteínas de 416 aminoácidos. Estudios realizados en modelos demostrados que atraviesan la membrana eritrocitaria 12 veces y exhiben cadenas cortas de aminoácidos en su zona externa. Estos polipéptidos se diferencian de otros antígenos de los grupos sanguíneos en que no tienen residuos de carbohidratos. Hay homología entre los productos de RHD y RHCE, la cual es mayor entre los productos de los alelos de RHCE; C y e difieren en 4 aminoácidos y E y e solo en 1 aminoácido. El polipéptido D posee 36 aminoácidos que serán reconocidos como extraños por los individuos D negativos.

Los eritrocitos RhnuH carecen por completo del antígeno Rh. Las proteínas Rh son parte de un complejo de la membrana en la cual la presencia de esos productos es importante para la expresión correcta o la presentación de otros constituyentes. Hay glucoproteínas que portan antígenos que requieren la presencia de la proteína Rh para su expresión (L, W, Duffy). 33

## Nomenclatura

Tres sistemas se desarrollaron para transmitir información genética y serológica del sistema Rh. La más aceptada es la de Fisher y Race que utilizaron tres conjuntos de genes vinculados (C y c, D y d, E y e) El gen y su producto tienen la misma letra, el gen se escribe en *italica*.

El fenotipo es la expresión de haplotipos. La letra R y r distinguen los que producen o no producen D respectivamente. A esto se agregan inscripciones de acuerdo a la combinación de genes y las especificidades antigénicas. Por ejemplo: R1 corresponde a la combinación de genes CDe y a las especificidades antigénicas C, D, e. El haplotipo indica genes ce y antígenos c, e.

El genotipo de una persona está formado por dos haplotipos, uno de origen materno y el otro de origen paterno. Si utilizamos como ejemplo la suma de los haplotipos descritos en el párrafo anterior veremos que si una persona es R1r su combinación de genes será CDE/ce y su especificidad antigénica C, D, e, c, e.

No siempre la identificación de los antígenos permite inferir el genotipo. En ese caso se establece la probabilidad de las frecuencias con las cuales determinadas combinaciones antigénicas proceden de un complejo genómico individual.

### **Determinación del fenotipo (D)**

En la práctica clínica hay 5 reactivos disponibles para la tipificación de sangre, los anti-D, -C,-E, -c y -e, pero en la práctica transfusional se utilizan el anti-D. Los otros son necesarios en estudios familiares o para la identificación de anticuerpos en patología.

El genotipo de una persona D positiva no puede ser determinado serológicamente, los estudios serológicos no son efectivos para determinar si es homocigota. Recientemente la técnica de clonación de genes puede permitir un conocimiento preciso. Las personas D negativas carecen de Rh D que codifican el antígeno D. La mayoría son homocigotas para Rhce, que codifica c y e.

El antígeno D no es fácilmente identificable en algunas personas debido a que las pruebas serológicas no dan aglutinación inmediata. En estos casos se requiere una incubación prolongada con el suero anti-D, o el agregado de suero antiglobulina luego de la incubación con anti-D. Se denominaban Du, pero actualmente se describen como D débil. El uso de reactivos anti-D monoclonales produce aglutinación directa de células D positivas que fueron consideradas como Du con los reactivos policlonales.

Las consecuencias en la práctica transfusional de la presencia de D débil han tenido muchas implicancias en relación a la conducta que se debe adoptar cuando son dadores o receptores.

Como dadores: la transfusión de sangre D débil a receptores D negativos ha sido proscrita, pues los eritrocitos transfundidos podrían producir una respuesta inmune contra D, a pesar que el D débil es menos inmunogénico que el D normal y podrían no estimular la producción de anticuerpos anti-D.

**Como receptores:** los pacientes con D débil pueden ser transfundidos con sangre D positiva sin un riesgo importante de inmunización, salvo en los casos en que la expresión fenotípica refleje la falta de epitopes de D, por lo cual la sangre D positiva puede producir aloanticuerpos-D.

**Enfermedad hemolítica feto-materno-neonatal:** en esta patología los eritrocitos se recubren de aloanticuerpos IgG de origen materno dirigidos contra un antígeno de origen paterno presente en las células fetales y ausente en las células maternas. Los eritrocitos son destruidos antes y después del nacimiento. La severidad determina desde la muerte intrauterina hasta alteraciones hematológicas en el recién nacido caracterizadas por anemia y eritroblastemia en todos los casos los anticuerpos de la madre reflejan aloinmunización por embarazo o transfusión.

El más común es el anti-D. El amplio uso de la inmunoprofilaxis posparto ha disminuido la inmunización contra el antígeno D asociada con el embarazo del 13% al 1-2%. El riesgo disminuye a 0.1% si se administra Rh Ig en las 28<sup>a</sup>. Semana de la gestación. La inmunoglobulina Rh (Rh Ig) es un concentrado en el que predomina Ig G anti-D derivada de pools de plasma humano. La dosis completa de anti-D (300 µg) es suficiente para contrarrestar los efectos inmunizantes de 15 ml de eritrocitos D-positivos, que corresponden a 30 ml de sangre entera fetal. En los casos de aborto del primer trimestre se usan dosis menores (50 µg). El efecto protector de la Rh Ig sobre las personas D-negativas expuestas a células D-positivas resultaría de la interferencia en el reconocimiento antigénico en la fase de inmunización primaria. 33

### **Antígenos (Ag) del sistema Rh**

Se considera que son lipoproteínas presentes en la membrana eritrocitaria. También existen datos que indican su participación en el funcionamiento de esta membrana, ya que los individuos que no poseen antígenos Rh en los hematíes presentan anemia hemolítica por fragilidad de los eritrocitos.

La complejidad del sistema Rh radica en el gran polimorfismo de sus antígenos, ya que existen múltiples variantes de los antígenos correspondientes a los locus D, C y E. La mayoría de estas variantes son muy poco frecuentes, por ello sólo mencionaremos aquellas que tienen interés en la práctica clínica.

### **Antígeno D<sub>μ</sub>**

Este es un alelo débil del antígeno D, que se pone manifiesto usando anticuerpos anti – D más potentes que los habituales o mediante técnicas que facilitan la aglutinación de los hematíes previamente sensibilizados (prueba de Coombs).

La importancia de su determinación radica en que un donante D<sub>μ</sub> positivo puede sensibilizar a un receptor D negativo. Si no se detecta en la sangre del donante, la clasificaremos erróneamente como Rh negativo.

### **Antígenos D parciales**

En individuos normales, el antígeno D es un mosaico de subunidades que se encuentra presente en su totalidad, o ausentes si el paciente es Rh negativo.

Sin embargo, ocurre en ocasiones que la persona es D positivo, pero le falta alguna parte de ese mosaico, de manera que puede inmunizarse contra esa parte en caso de recibir una transfusión o por contacto fetomaterno. Se producirán anticuerpos capaces de reaccionar contra los hematíes del donante y dará una impresión falsa de auto – anticuerpo anti – D.

### **Otros Antígenos**

Se producen antígenos extra como resultado de la cooperación de dos genes vecinos. Es el caso del antígeno F o ce, que da lugar a un anticuerpo muy potente, que en algunos casos ha sido responsable de la enfermedad hemolítica del recién nacido. También encontramos al antígeno G, que está presente en todos los hematíes D o C positivos y es capaz de producir un anticuerpo específico anti – G.

## **Antígenos ausentes**

Son los casos en los que existen haplotipos silenciosos, donde no se producen ninguno de los antígenos del sistema Rh. su genotipo sería -/-. En otros casos es parcialmente silencioso y faltan los antígenos EeCc, pero sí producen antígeno D. Su genotipo sería D -/ D-. 9

## **Anticuerpos (Ac) del sistema Rh**

A diferencia de los anticuerpos del sistema ABO, los anticuerpos que se producen frente a los antígenos del sistema Rh son de carácter inmune, es decir, se necesita una estimulación previa para su aparición en la sangre. Esta estimulación puede producirse por una transfusión o por contacto fetomaterno.

Suelen ser de tipo IgG, y se emplea para su detección la prueba de la antiglobulina humana debido a que reaccionan mejor en medio albuminoso. También se emplean con frecuencia enzimas, como la papaína, ficina y tripsina, para favorecer la aglutinación de los hematíes con los antisueros anti – Rh.

Debido a que el antígeno con mayor poder inmunógeno es el D, el anticuerpo que encontramos con mayor frecuencia es el anti – D, aunque también tienen importancia los otros anticuerpos. Por ejemplo, el autoanticuerpo anti – e suelen estar implicando en la mayor parte de los casos de anemia hemolítica autoinmune.

## **Diagnóstico en laboratorio**

### **Reacciones Antígeno – Anticuerpo (Ag-Ac)**

En el estudio de los grupos sanguíneos, las reacciones que se observan con mayor frecuencia son la aglutinación, la hemólisis y la precipitación.

La aglutinación es la agregación, mediada por anticuerpos, de las partículas que expresan antígenos de superficie. Los glóbulos rojos se aglutinan por que los anticuerpos se fijan a los determinantes antigénicos eritrocitarios de células adyacentes y las unen en agregados visibles.

La aglutinación es el punto final de la mayoría de las pruebas que involucran glóbulos rojos y anticuerpos de grupo sanguíneo y es la reacción más relevante en este estudio considerando que los anticuerpos del sistema ABO son fuertemente aglutinantes. En algunas técnicas los anticuerpos cierran la brecha entre células adyacentes; en otras se fijan a los glóbulos rojos pero no los agregan y para inducir aglutinación visible y medir la reacción se requiere un paso adicional.

La hemólisis es la destrucción de los glóbulos rojos, con liberación de la hemoglobina intracelular. La hemólisis in vitro mediada por anticuerpos de membrana depende de la actividad de las unidades de ataque del complemento. La hemólisis no ocurre si los antígenos interactúan con los anticuerpos en sueros sin complemento o plasma con anticoagulantes que posee cationes quelantes (calcio y magnesio), necesarios para la activación del complemento. En las pruebas para detección de anticuerpos contra antígenos eritrocitarios, la hemólisis constituye un resultado positivo porque demuestra la unión de ambos componentes, que activa la cascada del complemento.

El sobrenadante rosado o rojo es una observación importante e indica positividad. Algunos anticuerpos líticos in vitro (anti-Vel) pueden causar hemólisis intravascular en los receptores de transfusiones. Otros (anti-Lewis y algunos anti-Kidd) pueden lisar las células in vitro, pero casi nunca se asocian a hemólisis intravascular.

La precipitación es la formación de complejos insolubles, en general visibles, cuando los anticuerpos solubles reaccionan con antígenos solubles. Estos complejos se aprecian en los tubos de ensayo como un sedimento o anillo y en los geles de agar, como una línea blanca. La precipitación es el punto final de procedimientos como la inmunodifusión y la inmunoelectroforesis. Aún en presencia de antígenos solubles y anticuerpos específicos, la precipitación puede ser nula. Este evento requiere proporciones óptimas de antígenos y anticuerpos. Si el monto de anticuerpo es excesivo, los puntos antigénicos de fijación son insuficientes y no se entrelazan. Se forman complejos antígeno-anticuerpos, pero no se acumulan formando una malla visible. Este fenómeno se denomina prozona.

La combinación de antígenos y anticuerpos solubles también puede llevar a la neutralización completa o parcial de estos últimos. Aunque a menudo no se produce precipitado visible, la inhibición puede tener valor en las técnicas de identificación, por eliminación selectiva de anticuerpos específicos.

## **Aglutinación**

### **Factores que afectan la aglutinación**

La aglutinación es una reacción química reversible que se desarrolla en dos etapas:

**1er Estadio:** Sensibilización, es decir, fijación de los anticuerpos a los antígenos de la membrana eritrocitaria.

**2do Estadio:** Formación de puentes entre las células sensibilizadas para crear una estructura de enrejado que constituye la aglutinación.

En algunas reacciones Ag-Ac 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.

Existen diversos factores que afectan estos estadios y pueden manipularse para potenciar o disminuir la aglutinación.

### **Primer estadio de la aglutinación**

Antes de la unión, los antígenos y anticuerpos deben encontrarse y crear un nexo espacial apropiado. La posibilidad de asociación puede incrementarse por agitación centrifugación o variación de la concentración de anticuerpos. Los antígenos y anticuerpos deben complementarse en forma estructural (estérica) y química.

La sensibilización requiere el establecimiento de puentes químicos no covalentes entre los antígenos y anticuerpos. Las fuerzas de unión suelen ser débiles (en comparación con los puentes covalentes intermoleculares) y sólo actúan en un rango muy limitado. La combinación Ag-Ac es reversible y los puentes se crean y rompen de manera constante hasta alcanzar el equilibrio.

## Uniones químicas

Una vez que se forma el complejo Ag-Ac, las fuerzas que lo mantienen unido, son interacciones interatómicas débiles que mantienen al Ag y al Ac 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.

### Constante de equilibrio (afinidad) de los anticuerpos

La constante de equilibrio o de afinidad ( $K_o$ ) de una reacción deriva de las tasas relativas de asociación y disociación. La  $K_o$  de los anticuerpos de las reacciones antígeno-anticuerpo es variable. Refleja el grado de asociación, fijación mutua y la velocidad de la reacción. Cuanto más alto es el valor de  $K_o$ , mayor es la asociación, cuando  $K_o$  es alta, la reacción es más rápida y la disociación más difícil, cuando  $K_o$  es reducida, la detección puede requerir una tasa de anticuerpos más elevada.

El grado de encastre antígeno – anticuerpo recibe la influencia del tipo de uniones predominantes. Los enlaces hidrófobos suelen acompañarse con  $K_o$  más alta que los puentes de hidrógeno. La  $K_o$  depende de condiciones físicas como temperatura, pH, potencia iónica del medio y concentraciones relativas de Ag-Ac. En las pruebas de laboratorio que utilizan la aglutinación como punto final, la alteración de las condiciones físicas del sistema puede aumentar o disminuir la sensibilidad.

### Temperatura

La mayoría de los anticuerpos de grupos sanguíneo reacciona en rangos térmicos restringidos. Estos anticuerpos se dividen en dos grandes categorías:

Reactivos en frío (4-25°C) que generalmente son de tipo IgM, relacionados con reacciones exotérmicas, asociados mediante puentes de hidrógeno a los antígenos de naturaleza química hidrocarbonada.

Reactivos en caliente (30-37°C), son de tipo IgG, regidos por la entropía, unidos a los antígenos de naturaleza proteica a través de uniones hidrófobas.

Los anticuerpos que solo reaccionan in vitro a temperaturas bastante inferiores a 37°C casi nunca destruyen los glóbulos rojos transfundidos y en general se los considera significativos desde el punto de vista clínico. Aunque existen excepciones importantes. Muchos de estos anticuerpos reactivos en frío son de tipo Ig M, mientras que los reactivos en caliente son de tipo IgG.

Este concepto llevo a concluir en forma errónea que la clase de anticuerpo determina la temperatura de reacción. No obstante la temperatura de la reactividad Ag-Ac se vincula más con el tipo de reacción y la naturaleza química de los antígenos que con la clase de anticuerpos. Los antígenos hidrocarbonados suelen relacionarse con anticuerpos reactivos en frío y los proteicos con anticuerpos reactivos en caliente. Los anticuerpos clínicamente significativos son aquellos que tienen actividad in vivo que se manifiesta in vitro al reaccionar a 37 °C.

Las reacciones antígeno- anticuerpo llevan una descarga de energía libre en forma de calor (reacción exotérmica) y/o modificación en la entropía. Las reacciones exotérmicas se asocian a los antígenos hidrocarbonados mediante puentes de hidrógeno y en general prefieren las temperaturas bajas. Aquellas regidas por la entropía se asocian a los antígenos proteicos a través de uniones hidrófobas. Por ejemplo, los anticuerpos Rh aglutinan más a 37°C por la naturaleza proteica de sus antígenos.

Los efectos de las variaciones térmicas sobre la  $K_o$  de la mayoría de los anticuerpos de reacción en caliente son escasos o nulos. La influencia de la velocidad o la tasa de la reacción es mayor que la de la temperatura. Los anticuerpos reactivos en caliente podrían detectarse después de una incubación a menos de 37°C, pero podría ser necesario prolongarla.

En cambio los cambios térmicos afectan mucho a los anticuerpos reactivos en frío y el ascenso de la temperatura lleva a la disociación de los complejos antígeno-anticuerpo. Es así que la actividad del anti-p1, que reacciona con antígenos glucolípidicos, puede pasar desapercibida si se analiza a 37°C. 3

## **PH**

Se desconoce el pH óptimo, pero se supone que se aproxima al rango fisiológico. En la mayoría de las pruebas de rutina debe emplearse un pH de alrededor de 7.

## **Incubación**

El intervalo necesario para alcanzar el equilibrio depende del Ac. Las variables significativas incluyen requerimientos térmicos, clase de Ig y la forma en que se une con el Ag específico. El agregado de agentes potenciadores al sistema puede incrementar el monto de anticuerpos que se fijan a los antígenos, por lo tanto, abreviar el tiempo de incubación necesario para alcanzar el equilibrio.

## **Potencia Iónica**

En una solución salina normal los iones  $Na^+$  y  $Cl^-$  se agrupan alrededor de las moléculas del Ag y el Ac, y neutralizan parcialmente sus cargas opuestas.

Este recubrimiento dificulta la unión del Ac con el Ag 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 Ac aumenta.

## **Relación antígeno-anticuerpo**

El exceso de Ag en relación con el Ac, puede determinar una captación óptima de los Ac. En las pruebas de inhibición o adsorción esta circunstancia es útil. Sin embargo, en la mayoría de los estudios eritrocitarios el exceso de Ag reduce el número de moléculas de Ac unidas a cada GR, limitando su capacidad de aglutinación. Por lo tanto, en la mayoría de los procedimientos de rutina es preferible contar con anticuerpos en exceso. En la serología eritrocitaria es común usar dos gotas de suero por cada gota de suspensión de glóbulos rojos al 2-5%. Si los anticuerpos son poco reactivos ( $K_o$  baja), en general el aumento de la concentración puede acrecentar la sensibilidad de la prueba.

Muy rara vez, el exceso de anticuerpos puede inhibir la aglutinación y provocar un fenómeno de prozona comparable al que se observa en las reacciones de precipitación. No obstante, el aumento de la concentración de anticuerpos incrementa la sensibilidad de las pruebas de aglutinación. La disminución de la concentración de glóbulos rojos del 5% al 2% -3% duplica la proporción suero/células, como ocurre cuando se agregan cuatro gotas de suero a la suspensión celular estándar.

A veces es útil duplicar el suero, en particular durante la investigación de una reacción transfusional hemolítica cuando los estudios de rutina no revelan la presencia de anticuerpos. 3

### **Segundo estadio de la aglutinación**

Cuando los anticuerpos se fijan a los antígenos de la superficie eritrocitaria, las células sensibilizadas deben vincularse en una red. Este hecho permite visualizar la reacción. El tamaño y las propiedades físicas de las moléculas de anticuerpo, la concentración de puntos antigénicos de cada célula y la distancia entre células afectan la aglutinación.

Los puentes establecidos entre los anticuerpo ligados a los determinantes antigénicos de glóbulos rojos adyacentes suelen resultar de la colisión al azar de las células sensibilizadas. En condiciones isotónicas, los glóbulos rojos no pueden aproximarse a menos de 50-100<sup>Å</sup>. Las moléculas de IgG no alcanzan a cubrir esta distancia y producen la sensibilización sin formación de malla. En el caso de moléculas multivalentes más grandes (IgM) la aglutinación directa es fácil. La ubicación y densidad de los epítopes antigénicos permite que algunos anticuerpos IgG, causen aglutinación directa. Por ejemplo los antígenos A, B, M y N que se encuentran en los bordes externos de las glucoproteínas eritrocitarias y cuya concentración es bastante elevada, permiten que los anticuerpos IgG puedan entrelazarse.

Los glóbulos rojos suspendidos en solución salina tienen una carga superficial negativa neta. Las moléculas negativas de la membrana atraen cationes positivos que reducen, pero no neutralizan, la carga entre el medio circundante y la nube de iones atraída por las células. El potencial zeta es una medida de esta carga neta. Como las cargas iguales se repelen, la distancia entre los eritrocitos en un medio iónico es proporcional al potencial zeta. Se creía que este potencial desempeñaba un papel destacado en las reacciones antígeno-anticuerpo, pero ahora se lo considera un factor menor.

El agua de hidratación es una propiedad física importante que mantiene la distancia entre los glóbulos rojos suspendidos en solución salina. Se piensa que las moléculas de agua que se unen a las macromoléculas hidrofílicas de la superficie celular actúan como burbujas aislantes que evitan la asociación estrecha. La tensión interfacial (superficial) de los eritrocitos, inducida por las fuerzas de Van der Waals también es baja y por lo tanto, las células no se asocian.

Para potenciar el segundo estadio de la aglutinación y visualizar la reacción se usan varias estrategias. La centrifugación promueve el acercamiento físico de las células. La prueba antiglobulínica directa emplea suero antiglobulínico para favorecer la reacción. Otros métodos reducen la carga negativa de las moléculas superficiales, disminuyendo la capa de hidratación que rodea a las células e introduciendo macromoléculas con carga positiva que agregan las células.

Una vez que la reacción Ag-Ac ha ocurrido, la aglutinación puede o no producirse. Algunos factores permiten la aglutinación, otros la impiden, estos son: características del Ac, localización y número de sitios antigénicos, fuerzas que mantienen la distancia entre los eritrocitos.

## Características del anticuerpo

Dos de las características de los anticuerpos que deben considerarse son el tamaño y el número de sitios de combinación con el Ag.

Los anticuerpos IgM pueden establecer puentes entre los eritrocitos y aglutinarlos aún suspendidos en solución salina, esto es posible porque son moléculas circulares y poseen 10 sitios de combinación con el Ag, 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.

Las moléculas de IgG, a diferencia de las IgM, poseen sólo 2 sitios de combinación con el Ag 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.

## 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 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.

## Fuerzas que mantienen la distancia entre los eritrocitos:

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.

## Métodos potenciadores de la aglutinación

Para potenciar el segundo estadio de la aglutinación y visualizar la reacción se usan varias estrategias. La centrifugación promueve el acercamiento físico de las células. La PAI emplea suero antiglobulínico para favorecer la reacción. Otros métodos reducen la carga negativa de las moléculas superficiales, disminuyendo la capa de hidratación que rodea a las células e introduciendo macromoléculas con carga positiva que agregan a las células.

## 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 y una disminución del potencial zeta.

No todos los anticuerpos aumentan su actividad en las pruebas con albúmina, ya que esta 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.<sup>vi</sup> El reactivo más utilizado es la albúmina sérica en solución al 22% o 33% y polimerizada.

## **Enzimas**

Enzimas proteasas como la bromelina, tripsina, papaína y ficina se utilizan 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-acetil neuramínico (NeuNAc) de las cadenas de polisacáridos.

Cualquier mecanismo que elimine las cargas negativas de los GR reducirá la distancia que los separa al disminuir el potencial zeta y así facilitar su aglutinación por anticuerpos de 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 en tratados con neuraminidasa.

## **Moléculas con carga positiva**

La acción de estos agentes podría deberse a la neutralización de las cargas negativas aportadas por el ácido siálico característico de la membrana eritrocitaria.

Entre los polímeros con carga positiva están el bromuro de hexadimetrina, el sulfato de protamina, y la polisina L. Estos agentes en los GR normales exhiben agregación espontánea.

## **Polietilenglicol (PEG)**

El PEG es un polímero lineal hidrosoluble que se usa como aditivo para incrementar la captación de anticuerpos. Elimina agua, ocupa más espacio alrededor de los eritrocitos y concentra los anticuerpos, promoviendo su incorporación, y en muchos casos, potenciando la reacción.

## **LISS**

En comparación con la solución salina normal (0.17M), la solución de LISS (alrededor de 0.03M), potencia la captación de eritrocitaria de anticuerpos en el estadio.

Para evitar la lisis de glóbulos rojos a esta potencia iónica se incorpora una sustancia no iónica como la glicina. Estos reactivos contienen macromoléculas además de sales iónicas y amortiguadores. 3

## **4.8 Marco operativo**

### **Tipo de diseño**

El diseño seleccionado para el presente estudio ha sido: descriptivo, transversal.

En este estudio, en principio se realizó un corte transversal al 2007 al 2010 a partir de esa fecha se procedió a la recolección de las muestras de manera simultánea con el objetivo de describir la distribución de antígenos y anticuerpos del sistema ABO y Rh en el grupo de estudio.

## **Variables**

### **Identificación de variables**

Al inicio del estudio se identificaron las siguientes variables:

- Edad
- Sexo
- Antígenos del sistema ABO
- Antígenos del sistema Rh

### **Definición y operacionalización de variables:**

Variable:            Edad

#### **La Definición Conceptual:**

Tiempo que una persona ha vivido desde su nacimiento expresada en número de años

#### **1b Definición Operacional**

Conteo de tiempo transcurrido de cada persona que ha vivido desde su nacimiento, hasta el momento en que se realizará el estudio expresada en número de años.

#### **1c Categorización**

- 0-10 años
- 11-20 años
- 21-30 años
- 31-40 años
- 41-50 años
- 51-60 años
- 61-70 años

#### **1d Indicadores**

Mediante porcentajes

#### **1e Instrumentalización**

En tablas de recolección de datos

Variable:            Sexo

**2a Definición Conceptual:**

Características biológicas que diferencian al sexo masculino y femenino.

**2b Definición Operacional:**

Clasificación en masculino y femenino basada en características biológicas de los pobladores Weenhayek.

**2c Categorización**

Masulino M

Femenino F

**2d Indicadores**

Mediante porcentajes

**2e Instrumentalización**

En tablas de recolección de datos

Variable: Sistema ABO

**3a Definición Conceptual:**

Sustancia generalmente proteica, que da lugar a la síntesis de un anticuerpo y reacciona específicamente con el mismo.

**3b Definición Operacional:**

El Sistema ABO se identifica por la presencia o la ausencia de dos antígenos diferentes, A o B, en la superficie del hematíe. Los cuatro tipos sanguíneos que se contemplan en esta clasificación son A, B, AB y O, los cuales vienen determinados por dichos antígenos. El tipo AB presenta ambos antígenos; el tipo O carece de ambos.

**3c Categorización**

Grupo A

Grupo B

Grupo AB

Grupo O

**3d Indicadores**

Mediante porcentajes

**3e Instrumentalización**

En tablas de recolección de datos

Variable: Antígeno (D)

#### **4a Definición Conceptual:**

Sustancia antigénica presente en los eritrocitos de la mayor parte de las personas. Presente en los hematíes del 85% de las personas.

#### **4b Definición Operacional:**

Una persona que tiene el antígeno (D) es Rh+ (Rh positivo); una persona que carece del antígeno (D) Rh- (Rh negativo).

#### **4c Categorización**

Rh Ag (D) positivo

Rh Ag (D) negativo

Rh Ag (D) débil

#### **4d Indicadores**

Mediante porcentajes

#### **4e Instrumentalización**

En tablas de recolección de datos

### **Población y muestra**

#### **Universo**

Se consideró como universo a todos los habitantes de la tribu Weenhayek asentada en la zona del chaco que corresponde a 2020 pacientes.

#### **Marco muestral**

De los 2020 habitantes de la tribu Weenhayek asentada en la zona del Chaco, el tamaño de la muestra está conformado por 98 pacientes, que voluntariamente cooperaron para la elaboración del presente trabajo y además cumplían con los criterios de inclusión.

#### **Unidad de muestreo**

Habitante de la tribu Weenhayek asentada en la zona del Chaco

#### **Unidad de análisis**

Muestra de sangre anticoagulada con CPDA-1, de habitante de la tribu Weenhayek asentada en la zona del Chaco

## Muestra

La determinación del tamaño de muestra de estudio, fue obtenida de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2/\alpha * p * q * N}{d^2 * (N-1) + Z^2/\alpha * p * q}$$

N = Total de unidades del marco maestra que corresponde a 2020

$Z^2/\alpha = 1.962$  (si la seguridad es el 95%). Normal

p = proporción esperada (es este caso 4,5%=0.045)

q = 1-p (en este caso 1-0.045= 0.955)

d = precisión (en este caso deseamos un 0.04\*0. 4%)

Aplicada la fórmula el tamaño de la muestra que se obtuvo fue de n = 98

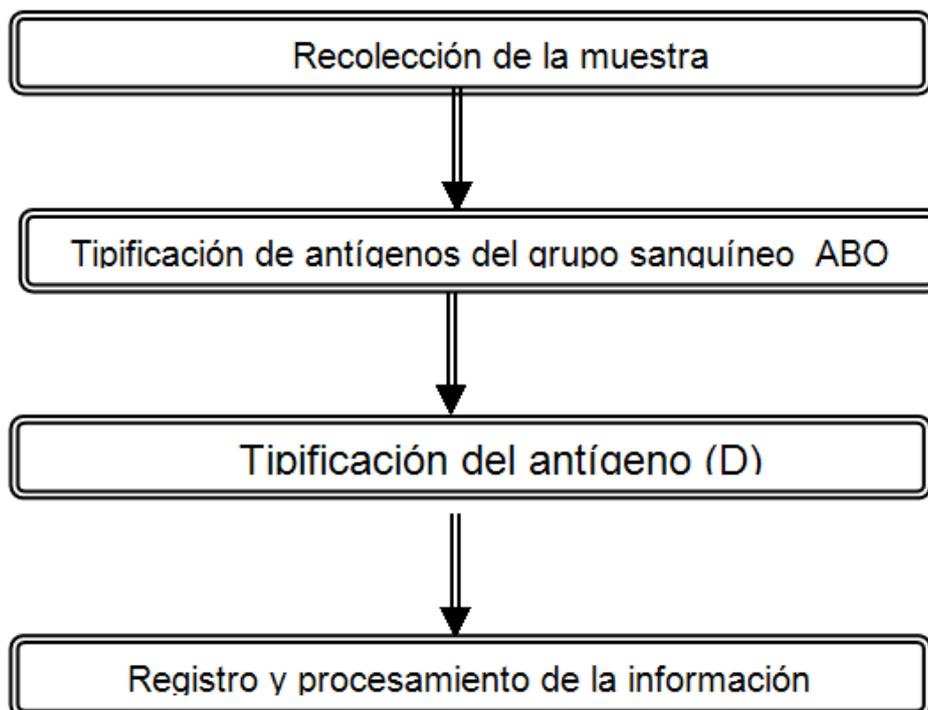
Conocidos los tamaños muestrales se procedió a la generación de números aleatorios mediante el programa Excel función análisis de datos: generación de números aleatorios.

## Instrumentos

La información fue recogida en una matriz diseñada para esta actividad, en la que se concentró toda la información de las variables que forman parte del presente estudio.

## Procesamiento de la información

El procesamiento de información se llevó a cabo de acuerdo al protocolo de estudio para lo cual se ha aplicado el siguiente flujograma previamente establecido



El análisis de los resultados producto de la aplicación de la técnica, fué realizado mediante cuadros que se obtuvieron de la tabulación y procesamiento de datos en el programa Excel 2003.

## 4.9 Material y técnicas

### Material

- Tubos de hemólisis (Tubos de vidrio de 12 x 75mm)
- Placas de vidrio
- Pipetas Pasteur de plástico
- Macro Centrifuga universal (ALC 4218 Centrifuge)
- Fuente de luz
- Lupa
- Reactivos
- Solución fisiológica. Cloruro de sodio 0,9
- Reactivo de Grupo sanguíneo NOVACLONE Anti-A murino monoclonal.
- Reactivo de Grupo sanguíneo NOVACLONE Anti-B murino monoclonal.
- Reactivo de Grupo sanguíneo NOVACLONE Anti-D IgM + IgG Monoclonal Blend

### Técnicas

#### Selección de la técnica

Las técnicas para demostrar la presencia de antígenos y anticuerpos del sistema ABO y Rh utilizadas son las técnicas en placa y en tubo, técnicas que demuestran ser específicas en la investigación de antígenos, y anticuerpos, motivo fundamental que ha permitido su elección.

Además su ejecución no implica equipamientos sofisticados, por el contrario es una prueba de fácil ejecución, y factible de ser realizado.

#### Recolección y preparación de la muestra

##### Recolección de la muestra

Las muestras fueron recolectadas previa asepsia con la técnica de venipuntura, habitual; tomándose como cantidad mínima de 5ml; en adultos y 3ml en niños. El anticoagulante utilizado fue el CPDA 1(citrato, fosfato, dextrosa, adenina) en una proporción de 1:10 (100ul de anticoagulante para 1ml de muestra).

##### Preparación de la muestra

Para que la muestra sea procesada se procedió al lavado de eritrocitos, tan pronto como fue posible después de su recolección.

##### Lavado de eritrocitos

El lavado de eritrocitos se realizó con solución fisiológica a través del siguiente procedimiento:

- En un tubo de hemólisis se colocó una gota de la muestra.
- Se agregó solución fisiológica hasta  $\frac{3}{4}$  partes del tubo.
- Centrifugándose durante 5 minutos a una velocidad de 3000 r.p.m. (revoluciones por minuto),
- Se eliminó por completo el sobrenadante,
- Se repitió los pasos 2-3 y 4 por tres veces.
- Y se preparó una suspensión del 2% al 5% de glóbulos rojos con solución fisiológica.

### **Determinación de antígenos del sistema ABO**

Técnica de análisis en portaobjetos:

#### **Procedimiento**

- Se preparó una suspensión al 35-45% de los glóbulos rojos.
- Se colocó una gota (40-50ul) del reactivo en un extremo del portaobjetos rotulado.
- Mediante una pipeta de transferencia, se añadió 2 gotas de la suspensión de células al 35-45% a cada gota de reactivo
- Se mezcló bien cada suspensión de glóbulos rojos sobre el área circular de aproximadamente 20-40mm, usando diferentes varillas de aplicación limpias para cada suspensión.
- Después de mover suavemente el portaobjetos adelante y atrás durante 2 minutos se observó la aparición de hemaglutinación macroscópica.

#### **Técnica de análisis en tubo**

##### **Procedimiento**

Se colocó una gota (40-50ul) de reactivo de grupo sanguíneo Anti-A o Anti-B en un tubo de ensayo adecuadamente rotulado.

Mediante una pipeta de transferencia, se añadió al tubo de ensayo 1 gota de la suspensión de glóbulos rojos preparada al 2-5%. Se mezcló bien el contenido del tubo de ensayo. Centrifugándose durante: 15-30 segundos a 1000 x g

Se resuspendió suavemente la suspensión de glóbulos rojos y se observó la aglutinación macroscópica. Para examinar la presencia de la aglutinación se tuvo el cuidado al despegar el botón de hematíes del fondo del tubo de hemólisis, agitando suavemente, para desalojar totalmente el

botón, y a continuación se agitó suavemente hasta producir una suspensión uniforme de hematíes o aglutinados que se observarán macroscópicamente con la ayuda de una fuente o una lupa.

La presencia de aglutinación nos indicó una reacción positiva. La ausencia de aglutinación nos indicó una reacción negativa.

### Control de Calidad

Además antes de realizar las pruebas, se efectuó el control de calidad a los reactivos utilizados cuyo resultado es el siguiente

Control de calidad a reactivos de grupo sanguíneo NOVACLONE: Anti-A murino , Anti-B murino monoclonal.y Anti-D IgM + IgG Monoclonal

**Tabla 4.1** Control de Calidad

Pruebas	Reactivos		
	Anti-A	Anti -B	Anti-D
Avidez	4 segundos	3 segundos	6 segundos
Intensidad	4 +	4+	4 +
Score	10	10	10
Título	1/2048	1/1024	1/512

### Delimitaciones del estudio

El presente estudio se realizó del 2007 al 2010 en individuos de la etnia weenhayek o matacos, ubicada sobre el margen derecho del río Pilcomayo en el Chaco Boliviano, en la comunidad de Zanandita (Villamontes) y las determinaciones de los antígenos del sistema ABO y sistema Rh se realizaron en el Servicio de Laboratorio del Centro de Investigación y Educación Sexual (CIES) Sucre y Villamontes.

## 4.10 Resultados

### Sexo

Según la variable sexo el 53% de los participantes de este estudio correspondió al sexo masculino y el 47% al sexo femenino.

**Tabla 4.2** Distribución según sexo: en la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano. Sucre 2010

Sexo	%
Masculino	53
Femenino	47
Total	100

### Edad

El grupo etáreo con mayor frecuencia en este estudio, fue de 11-20 años con un 30%, y el de menor frecuencia corresponde al grupo etareo de 51-60 años con solo el 3%.

**Tabla 4.3** Distribución según grupo etáreo: en la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano. Sucre 2010

Edad	%
0-10 años	17
11-20 años	31
21-30 años	21
31-40 años	14
41-50 años	9
51-60 años	3
61-70 años	4

### Grupo Sanguíneo ABO

Una vez realizada la tipificación del grupo ABO, se encontró que el 100% de los participantes de este estudio correspondían al grupo O.

**Tabla 4.4** Frecuencia de grupo sanguíneo ABO: en la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano. Sucre 2010

Grupo Sanguíneo ABO	%
Grupo sanguíneo A	0
Grupo sanguíneo B	0
Grupo sanguíneo AB	0
Grupo sanguíneo O	100

### Grupo sanguíneo ABO según edad

Según la edad, el grupo sanguíneo O se presentó en el 100% de todos los grupos etareos, observándose la ausencia total de los grupos sanguíneos A, B y AB.

**Tabla 4.5** Frecuencia de grupo sanguíneo ABO según edad: en la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano. Sucre 2010.

Edad	Grupo Sanguíneo A	Grupo sanguíneo B	Grupo sanguíneo AB	Grupo sanguíneo O
0-10 años	0	0	0	17%
11-20 años	0	0	0	31%
21-30 años	0	0	0	21%
31-40 años	0	0	0	14%
41-50 años	0	0	0	9%
51-60 años	0	0	0	3%
61-70 años	0	0	0	4%

### Grupo sanguíneo ABO según sexo

El grupo O, se encontró presente en el 100% de los participantes tanto en el sexo masculino como en el femenino, demostrando así el escaso polimorfismo.

**Tabla 4.6** Frecuencia de grupo sanguíneo ABO según sexo: en la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano. Sucre 2010

Sexo	Ag. A	Ag. B	Ag. O
Masculino	0	0	57%
Femenino	0	0	43%
Total	0	0	100%

### Antígeno (D)

#### Antígeno (D) según edad

Una vez realizada la tipificación del antígeno (D), se encontró que en todos los grupos etareos el 100% de los participantes de este estudio correspondían al grupo Rh (D) positivo.

**Tabla 4.7** Frecuencia del antígeno (D) del Sistema Rh según edad: en la etnia Weenhayek o matacos, asentada en el Chaco Boliviano. Sucre 2010

Grupo	Nro.	Antígeno Rh (D)			
		Rh (D) positivo		Rh (d) negativo	
Etareo		Nro.	%	Nro.	%
0-10 años	17	17	17,3	0	0,0
11-20 años	29	29	29,6	0	0,0
21-30 años	22	22	22,4	0	0,0
31-40 años	14	14	14,3	0	0,0
41-50 años	9	9	9,2	0	0,0
51-60 años	3	3	3,1	0	0,0
61-70 años	4	4	4,1	0	0,0

### Antígenos Rh según sexo

En relación al sistema Rh, se encontró que tanto el sexo femenino como el masculino en el 100% de los participantes corresponde a Rh (D) positivo.

**Tabla 4.8** Frecuencia del antígeno (D) del Sistema Rh según sexo: en la etnia Weenhayek o matacos, asentada en el Chaco Boliviano. Sucre 2010

	Nro.	Antígeno Rh (D)			
		Rh (D) positivo		Rh (d) negativo	
Sexo		Nro.	%	Nro.	%
Femenino	46	46	100	0	0
Masculino	52	52	100	0	0

### Análisis y discusión

La frecuencia en que se presentan los grupos sanguíneos en la población general varía de acuerdo a los grupos étnicos, según estudios realizados en Estados Unidos en una población de indios americanos, la distribución es la siguiente: grupos sanguíneo "O" 79%, "A" 16%, "B" 4%, "AB" 1%.<sup>36</sup>

En Bolivia en un trabajo realizado en una población originaria Chipayas de Oruro, se observó una distribución del 100% del grupo sanguíneo "O" Rh positivo. <sup>36</sup>

En Chuquisaca en el trabajo realizado en el instituto Gastroenterológico Boliviano Japonés en el año 2005, en pobladores originarios procedentes de las comunidades del municipio de Tarabuco, se encontró que el 88% de la población estudiada corresponde al grupo sanguíneo "O", el 12% corresponde al grupo sanguíneo "A". No se observaron casos de grupo sanguíneo "B" ni "AB". El 100% de la población estudiada presentó el grupo sanguíneo Rh positivo. <sup>36</sup>

Un estudio realizado por el Dr. Jaime Ríos Dalenz en momias del altiplano Boliviano y mediante el método de aglutinación, en muestras de tejidos momificados presenta el siguiente resultado:

- Sistema ABO 100% correspondieron al grupo sanguíneo O.
- Sistema Rh: 100% fueron Rh positivo.

Fuente: Archivos Bolivianos de Historia de la Medicina Vol. 10 N° 1 - 2 Enero - Diciembre, 2004.

Suárez Morales\*, señaló que los resultados de su trabajo confirman estudios sobre los grupos autóctonos de América. Los cuales parecen corresponder a:

- 100% al grupo sanguíneo O y D. 36.

El presente trabajo de investigación fue realizado con el objetivo de obtener información acerca de los antígenos eritrocitarios de la etnia Weenhayek o matacos, que vive en el Chaco Boliviano, cuyo resultado demostró que los pobladores de esta etnia en el 100% correspondían al grupo sanguíneo "O" y con referencia al sistema Rh, el 100% corresponde al antígeno (D) positivo permitiendo demostrar el nulo polimorfismo.

#### **4.11 Conclusiones**

Las conclusiones a las que se llegó en el presente estudio son:

Los participantes del presente estudio corresponden al 53% del sexo masculino y 47% al sexo femenino.

El grupo etáreo que mayor frecuencia presentó en este estudio fue el 11-20 años en un 31 % de y el de menor frecuencia es el de 51-60 años con 3%.

En la etnia Weenhayek el 100% de la población pertenece al grupo sanguíneo O y existiendo una ausencia total del grupo sanguíneo A y B. Hecho que permite confirmar la presencia de una etnia con poco o nulo contacto con otras culturas, en la que el polimorfismo en el sistema ABO es escaso.

En la etnia Weenhayek el 100% de la población es Rh positivo para el Antígeno (D), lo que permite corroborar el escaso polimorfismo para el sistema Rh en esta etnia.

La presente investigación confirma a través de la determinación de antígenos eritrocitarios de los sistemas ABO y Rh el escaso polimorfismo, en la etnia Weenhayek, que a pesar de las frecuentes invasiones, migraciones y colonizaciones, esta etnia mantiene su escaso polimorfismo, al igual que muchas otras etnias que viven a lo largo del territorio Boliviano.

#### **4.12 Recomendaciones**

Las recomendaciones que se consideran pertinentes a la conclusión de este trabajo son:

Para estudios posteriores se recomienda investigar otros sistemas sanguíneos por ejemplo el sistema Diego, Kell y Duffy y realizar el estudio, para que con los resultados obtenidos se pueda efectuar un meta-análisis que permita conocer con mayor profundidad el comportamiento de los sistemas sanguíneos en la población étnica de Bolivia.

Con la conformación del nuevo estado se han puesto al descubierto y registrado cerca de 36 etnias, el presente estudio se realizó en una sola etnia, por lo que se considera necesario recomendar la realización de este tipo de estudios en las etnias restantes, para obtener un mapeo sobre los sistemas ABO y Rh, que permitan conocer con exactitud la frecuencia poblacional, con el objetivo de enriquecer la información sobre estos sistemas debido a su importancia en la medicina transfusional.

#### 4.13 Agradecimientos

La investigadora agradece a la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca por el apoyo brindado en el desarrollo del presente trabajo

#### 4.14 Referencias

Asociación Argentina de Hemoterapia e inmunohematología, Manual Técnico 13<sup>a</sup> Edición Buenos Aires 2001

Barbolla Importancia Clínica del Sistema ABO, Revista Argentina de transfusión volumen XXI. Septiembre 1995

Bermeman Z, van Bockstade. Dr. Bitembrock Win. Et.al Flor citometric analysis of eritrocy the blood group A antigen density profiles. Vox Sang. 1991

Clausen H, LaverySB Nudelman E, et.al. Repetitive An epitope defined by group A1-specific monoclonal antibody. Chemical basis of qualitative A1 and A2 distinction. Proe Natl Acad. SCI USA 1985.

Eylar EN, Macloff MA, Brody OR. The contribution of sialic acid to the surface charge of the erythrocyte. J Biol Chem 1962; 237:1992.

Franco RF, Simoes BP, Zago M relative frecuencias of the two "O" alleles of the histoblood ABH system in differentee racial groups. Von Sang. 1995

Fukuda M, Fukuda MN, Hakomori ST. Developmental change and genetic defect in the carbohydrate structure of band 3 glycoprotein of human erythrocyte membrane. J Biol Chem 1979; 254:3700-3.

Fumiichiro Yamamoto Molecular Genetics of ABO. Vox Sanguinis 2000

Fumiichiro Yamamoto Molecular Genetics of the ABO histo-blood group system. Vox Sanguinis 1995

Gamma-ReActin Antibody detection strips. Red cell affinity column test for the detection of IgG antibodies. Hosuton TX Gamma Biologicals. 1996.

Giannecchini Doroteo. Historia Natural, Etnográfica, Geográfica. Lingüística del Chaco Boliviano 1898. Editor: P. Lorenzo Calzavarini O.F.M. Fondo de Univerisión Social.

Grasso Ibarra Dick E. Pueblos indígenas de Bolivia. Editorial Juventud. La Paz. }

Issitt PD. Applied blood group serology. 3 ed. Miami: Montgomery Scientific Publications, 1989.

Issitt PD. Applied blood group serology. 3 ed. Miami: Montgomery Scientific Publications, 1989

- Jorgensen J, Nielsen M CB, Noramrk J. The influence of ionic strength, albumin and incubation time on the sensitivity of the indirect Coombs. Test. *Vos Sang* 1980
- Lowe JB. Carbohydrate –Associated Blood Grup. Antigens Tht ABO, H/Se and Lewis loci. *Immunobiology of transfusion medicine* New York 1994
- Mide SM, Carreras LO, Fassi D, Forastiero D *Sangre estructura y fisiología* 1ra Edición Buenos Aires 2001
- Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. ed. *Blood transfusion in clinical medicine*. 10 ed. London: Blackwell Scientific Publications, 1997.
- Mollison PL., Engelfriet CP, Contreras M. eds. *Blood transfusión and clinical medicine* 10ª Ed. Oxford England Blackwell scientific publications, 1997
- Msc. Marycruz Mojica Sandi, Msc. Carolina Torres, Dra. Teresa Michel, Dra. Greta Vargas, Dra. Maria Gloria Bello. *Prevalencia De Antígenos Eritrocitarios Del Sistema ABO Y Rh En Población Originaria De Tarabuco*. Sucre, 2005
- Ogasawara K, Yabe. R Ichikawa et. al. *AI Molecular genetic analysis of variant phenotypes of the ABO blood group system*. *Blood* 1996
- Olsson Chester. Evidence for a New type of O allele the aBO locus, due to a combination of the A2 nucleotide deletion and A el nucleotide insertion *Von. Sang* 1996
- Organización Panamericana de la salud Oficina regional para las Américas de la Organización Mundial de la Salud La Paz Bolivia citado 3 noviembre 2005 disponible en <http://salud.ops.org.bo>
- Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. *Inmunología básica y clínica*. 10a ed. México: Manual moderno: 2002
- Petty AC, Green CA, Daniela GL. The monoclonal antibody-specific antigens assay in the inestigation of human red-cell antighensand their associated membrane proteins. *Transfusion med*. 1997
- Pico MC, Giraldino IG, Otero A. *Inmunología experimental*. La Habana: Félix Varela, 1997.
- Pollack W, Hager HJ, Reckel R. A study of the forces involved in the second stage of the hemagglutination. *Transfusion* 1965; 5:158
- Roitt IM. *Essential immunology*. 4th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1980.
- Rosse WF. *Clinical immunohematology: basic concepts and clinical applications*. Boston: Blackwell Scientific Publications, 1990:328.
- S. Henry R. Mollicone, J. Love Samuelsson, G. Larson. A second monosecretor allele of the blod group alpha (1.2) fucosyltranferase gene. *Vox Sanguinis* 1996
- Salmons C. *Les groupes sanguins ou I. Escriture de genes*. Editorial Masson. Paris 1997
- Spalter. Kaveri, Bonnin, Manil, Cartron, Kazatchkine Normal human serum contains natural anibodies reactive with autologous ABO blood group antigens. *Blood*, Vol93 Nro.12. 1999
- Universidad de Córdoba España [Página de internet] *Inmunologia on line* disponible en <http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular>
- Vélez A. Hernán. *Hematología*, Quinta edición CIB – Colombia.

Yamamoto, Fl. Review:.,Recent progress in the molecular genetic study of the histo blood group ABO system. *immunoematology* 1994

Yamamoto, Mc Neil M. Yamamoto, Hakomori, Harris. Molecular genetics analisis of the ABO blood group system. *Vox Sanguinis* 1993