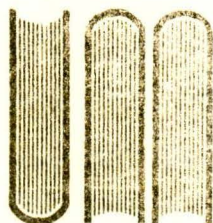


DICNE  
\$560

21 ENE. 1980

# UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS



UNIVERSIDAD  
DE MONTERREY

*Clasif.*  
*070.54*  
*F391d*  
*1979*

*Título*

DETECCION DE INDIVIDUOS PORTADORES  
DEL FACTOR DU.

*Folio* 801139

REPORTE DEL PROGRAMA DE EVALUACION FINAL  
QUE PRESENTA

*Autor*

MA. DEL CARMEN FERRIGNO MALDONADO

EN OPCION AL TITULO DE  
LICENCIADO EN QUIMICA CON ESPECIALIDAD EN  
ANALISIS CLINICOS

*Vo. Bx.*  
*Ma. Lourdes Mtz. M.*

MONTERREY, N. L.

DICIEMBRE DE 1979

**BIBLIOTECA UNIVERSIDAD DE MONTERREY**

Con amor a mi esposo

Lic. Mario Chávez Elizondo

Con mucho cariño

A mis padres Arq. Jesús H. Ferrigno Alanís

Ma. del Carmen Maldonado de Ferrigno

A mis hermanos

A mis abuelitos

Con gratitud

A mis maestros

A mis compañeros

Este trabajo se efectuó en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la División de Ciencia Naturales y Exactas de la Universidad de Monterrey bajo la dirección de la Srta. Ma. de Lourdes - Martínez Macouzet, Q.F.B.

## INDICE

	Página
Introducción	1
Material y Métodos	11
Resultados	14
Discusión y Conclusiones	18
Resumen	21
Bibliografía	22

## INTRODUCCION

En el mundo no existen dos individuos idénticos, esta -- distinción se debe a las características tanto internas como externas que cada individuo posee. Las características externas son fácilmente notorias: la complexión, -- las facciones, color de pelo, de ojos, etc. Los deter-- minantes antigénicos, en cambio, son los que constituyen las características internas y los que, por consiguiente permiten distinguir interiormente un ser de otro.

La Genética, ciencia de la herencia, estudia las carac-- terísticas transmitidas de padres a hijos; las cuales -- hacen a cada individuo diferente y especial.

Dentro de las características que un ser hereda de sus progenitores, tenemos a los isoantígenos ó antígenos homólogos, éstos se encuentran en los tejidos del cuerpo, en las plaquetas, en los glóbulos blancos y en los eritrocitos constituyendo el factor principal de diferenciación entre individuos de la misma especie. (2)

Los antígenos o inmunógenos son usualmente moléculas orgánicas que poseen una estructura rígida y en general -- pueden ser proteínas o polisacáridos y raramente lípidos; algunos pueden sin embargo, estar formados por una combinación de las tres sustancias químicas. Estas moléculas al ser introducidas a un organismo que no las reconoce como propias, inducen una respuesta inmune específica, es decir, estimulan la producción de los anticuerpos.

Se conoce con el nombre de anticuerpos a las proteínas séricas específicas producidas por el tejido linfoide -- como resultado de un estímulo con un antígeno. Los anticuerpos tienen la capacidad de unirse tanto "in vivo" -- como "in vitro" con el antígeno responsable de su producción. (14) Existen dos clases de anticuerpos: los naturales y los de origen inmunológico. Los naturales son -- aquellos que aparecen en el suero sin ningún estímulo -- antigénico aparente; esto no significa que sean producidos espontáneamente ya que es muy posible que deban su

existencia a substancias extrañas como bacterias y plantas que puedan contener antígenos semejantes en estructura a los sanguíneos. Los de origen inmunológico son aquellos que aparecen debido al estímulo recibido por parte de una substancia extraña o inmunógeno. (1)

Antígenos en los Eritrocitos.- En la membrana de los eritrocitos o glóbulos rojos, existen una gran cantidad de antígenos siendo los más importantes tanto por su poder inmunogénico como por su frecuencia en la población los que constituyen los sistemas ABO y el Rh.

En 1900 Karl Landsteiner fue el primero en notar diferencias en los eritrocitos de los individuos. El observó que al mezclar sangres de distintas personas, en ocasiones se producía una aglutinación, es decir, aparecían acúmulos burdos debido a la unión de antígenos celulares con anticuerpos específicos contenidos en el suero sanguíneo; gracias a estas observaciones se distinguieron tres grupos sanguíneos a los que denominó A, B y O. Más tarde en 1906, se descubrió el tipo AB.

Después del descubrimiento del sistema ABO, Landsteiner y Weiner en 1939, trabajando con glóbulos rojos del mono Rhesus, notaron un nuevo antígeno en la membrana del eritrocito al que llamaron Rh; de esta manera se estableció lo que hoy en día se conoce como sistema Rh.



Para explicar como se transmiten genéticamente las características respecto al sistema Rh, se postularon dos teorías: la primera conocida como la de Fisher-Race y la segunda como la teoría de Weiner.

Según Fisher-Race la herencia del antígeno Rh se debe a tres pares de genes alélicos muy íntimamente ligados: -- Cc, Ee y Dd. Los padres contribuyen cada uno con tres genes: C ó c, E ó e y D ó d, para formar el sistema Rh del hijo. (12) Según esta teoría el alelo D sería el que regularía la producción del antígeno Rh, por lo que se considera importante en muchos casos conocer genéticamente a los padres. Por ejemplo, en el caso de una madre Rh negativa y un padre Rh positivo, sería de mucha utilidad clínica y médica, conocer si el padre es heterocigoto (Dd) u homocigoto (DD) para el factor Rh, de esta manera se podría predecir el tipo Rh de la descendencia y evitar problemas relacionados con el embarazo como es el caso de la eritroblastosis fetal.

La segunda teoría propuesta por Weiner, se basa en el concepto de alelos complejos múltiples, según el cual, un mismo foco sobre el cromosoma regularía la producción del antígeno Rh. Los determinantes antigénicos propuestos por Weiner son Rho, rh', rh'', hr' y hr''. (2)

Para poder separar a los individuos en Rh positivos ó Rh

negativos, se hace uso de suero anti-Rh que contiene anticuerpos contra el factor Rh, los cuales al ponerse en contacto con sangre Rh positiva, darán lugar a una aglutinación, es decir habrá unión antígeno-anticuerpo; en el caso de que no aparezca aglutinación alguna, se consideraría la ausencia del antígeno Rh y por lo tanto el individuo sería Rh negativo.

Anticuerpos contra Antígenos Sanguíneos.- Los anticuerpos contra el antígeno Rh difieren de los del sistema ABO considerándose como principales diferencias las siguientes:

- 1.- Los anticuerpos anti-Rh no son de tipo "natural" -- sino que son sintetizados en respuesta a algún estímulo, ya sea una transfusión no compatible ó el paso de glóbulos rojos Rh positivos del niño a su madre Rh negativa a la hora del alumbramiento.
- 2.- Los anticuerpos anti-Rh son inmunoglobulinas IgG, -- mientras que los anti-A y anti-B son IgM.
- 3.- Los anticuerpos anti-Rh no aglutinan a las células rojas en solución salina, es decir, son anticuerpos "incompletos".
- 4.- Los anticuerpos anti-Rh no fijan el complemento. (4)

Importancia Clínica del Sistema Rh.- Debido a que se considera al antígeno Rh como uno de los más inmunogénicos de los factores sanguíneos, su importancia clínica es --

muy grande, dado que una enfermedad relacionada con este factor es la eritroblastosis fetal ó enfermedad hemolítica del recién nacido. Esta enfermedad se debe al ataque de los anticuerpos anti-Rh producidos por una madre Rh - negativa previamente sensibilizada, en contra de los glóbulos rojos Rh positivos del feto en desarrollo. (6)

La enfermedad hemolítica del recién nacido se caracteriza por anemia severa, generalmente con hiperplasia eritrocítica, esplenomegalia e hiperbilirrubinemia. Esta enfermedad presenta diferentes grados clínicos dependiendo de la severidad de los síntomas, pudiendo tener un rango que comprende desde una anemia débil difícilmente notoria hasta la muerte intrauterina del feto. Se ha demostrado que el daño más importante que se produce en el nuevo ser es el causado por depósitos de pigmentos biliares en el núcleo de las células cerebrales, esta condición conocida como encefalopatía por bilirrubina puede tener como consecuencia un daño permanente en el cerebro. (15)

Sin embargo, se ha notado que el primer hijo Rh positivo de una madre Rh negativa no se ve afectado por esta enfermedad, pero el segundo hijo Rh positivo sí podría presentar los síntomas de anemia, esplenomegalia, etc., dependiendo de la severidad de la enfermedad y del grado de sensibilización de la madre. Para explicar el meca-

nismo de esta enfermedad Levine postuló la siguiente teoría: en el primer embarazo positivo, la madre Rh negativa se sensibiliza al paso de los glóbulos rojos del hijo a la hora del nacimiento, empezando a producir anticuerpos anti-Rh y la información para la producción de estos anticuerpos permanece en la memoria del sistema inmune, sintetizándose en el momento en que hubiese un nuevo --- estímulo por el antígeno responsable de su producción, - siendo en este caso el antígeno Rh. Al segundo embarazo positivo, la madre ya sensibilizada podría producir inmediatamente anticuerpos anti-Rh al activarse la memoria del sistema inmune. Estos anticuerpos tienen la capacidad de atravesar la placenta, dañando por consiguiente - los glóbulos rojos del niño y originando la anemia característica de la eritroblastosis fetal. (14)

Hoy en día se cuenta con dos técnicas efectivas para proteger al niño contra la eritroblastosis fetal. La primera consiste en prevenir la sensibilización de la madre - evitando las hemorragias transplacentarias que la exponen a un alto riesgo de inmunización. La segunda en inhibir la producción de anticuerpos específicos contra el antígeno Rh mediante la inmunización pasiva con anticuerpos anti-Rh.

Variantes del Factor Rh: Factor Du.- Es importante tanto

médica como clínicamente detectar las variantes del antígeno Rh. En 1944 Weiner observó que existían variaciones semicuantitativas entre los individuos respecto al antígeno Rh pues muchas veces los eritrocitos Rh positivos aglutinaban débilmente al mezclarse con anticuerpos anti-Rh ó no aglutinaban hasta que se efectuaba una prueba adicional utilizando anti-globulina humana. A esta clase de eritrocitos se les denomina "portadores de la variante Du".

La variante Du se clasifica en dos grupos principales, los cuales están controlados aparentemente por mecanismos genéticos diferentes, aunque la reacción serológica que se observa es la misma para los dos. (3) Existe entonces el "tipo hereditario" (dce/Duce) que se transmite -- por el correspondiente gen alélico como D débil y el --- "tipo de interacción de genes" el cual resulta de la supresión de D por el gen C en el cromosoma opuesto. (4) - Este último no es hereditario ya que el arreglo de genes es infrecuente.

El factor Du no es un antígeno distinto al factor Rh ya que no es posible separar la fracción del suero anti-Rh que reacciona con el antígeno Rh, de aquella que reacciona con el factor o variante Du, tampoco es posible -- producir un anticuerpo específico para el Du.

En varios estudios realizados se ha observado que son -- mucho más frecuentes las interacciones genéticas entre -- personas de color que entre individuos blancos; por lo -- que se observan las variantes antigénicas más comúnmente en personas de raza negra. (10)

Para detectar el antígeno Du es necesario llevar a cabo una prueba con anti-globulina humana, haciendo uso de -- los eritrocitos supuestamente Rh negativos sensibiliza-- dos con suero anti-Rh y observando los acúmulos o la a-- glutinación producida por la anti-globulina, la cual tie-- ne la función de unir a los anticuerpos incapaces de a-- glutinar en solución salina, ó anticuerpos incompletos y provocar una aglutinación visible.

La importancia de detectar la variante Du, haciendo uso de la anti-globulina reside en el hecho de que las san-- gres Du positivas se consideran como antigénicas al ser inyectadas a personas Rh negativas; por lo tanto si a -- un individuo verdaderamente negativo al Rh se le efec-- tuara una transfusión con sangre aparentemente negativa, es decir no se le hubiera efectuado la prueba para la -- variante Du y fuera Du positivo, ésto provocaría inmedia-- tamente el estímulo del sistema inmune al reconocer un -- antígeno extraño en su ambiente, dando como resultado -- una sensibilización y quedando así el riesgo de que si -- se efectuara una segunda transfusión con sangre no compa

tible, se provocaría desde una simple fiebre, escalofríos ó dolor lumbar hasta la muerte del individuo. Por todo lo antes mencionado, al individuo Du se le considera Rh positivo y en una transfusión solamente podrá recibir -- sangre de personas Rh negativas, ya que se ha observado que si recibe sangre positiva se estimula la producción de anticuerpos contra el antígeno Rh que contienen las -- sangres Rh positivas comunes; las personas Du positivas por ningún motivo podrán donar sangre a personas Rh ne-- gativas pero sí a las Rh positivas ya que esta variante del Rh no produce ningún efecto estimulante o antigéni-- co en individuos Rh positivos.

Otra razón importante para determinar el factor Du es la relacionada con la eritroblastosis fetal ó enfermedad -- hemolítica del recién nacido, ya que un niño Du positivo desarrollándose en una madre Rh negativa ya sensibiliza-- da podría padecer los mismos síntomas de un niño Rh posi-- tivo que naciera de una madre Rh negativa ya sensibiliza-- da.

Dada la importancia del factor Du, el objetivo de esta -- investigación es determinar la frecuencia de portadores de este factor en personas aparentemente Rh negativas.

## MATERIAL Y METODOS

Las muestras de sangre utilizadas en esta investigación se obtuvieron al azar de Hospitales y Laboratorios particulares así como de Clínicas de Servicio Social y de personas que de antemano se sabían Rh negativas.

A todas las muestras obtenidas se les determinó el factor Rh; las muestras Rh positivas se descartaron, prosiguiendo la investigación con aquellas que resultaron Rh negativas.

### Método para determinar el factor Rh.-

a).- En una placa de aglutinación se pone una gota de -



sangre a analizar.

- b).- Se agrega una gota de suero anti-Rh\*.
- c).- Se mezcla con un aplicador por unos cuantos segundos hasta lograr una mezcla homogénea.
- d).- Se inclina la placa hacia adelante y hacia atrás - y se observa si se produce alguna aglutinación durante los 2 minutos siguientes.

Método para determinar el factor Du.- Esta prueba se -- lleva a cabo solamente con sangres Rh negativas.

- a).- Se prepara una suspensión al 5% de glóbulos rojos (R-2) en solución salina fisiológica (R-1).
- b).- Se agrega a un tubo de ensaye de 13 x 100 una gota de suero anti-Rh\*. A un segundo tubo, se agrega, - una gota de solución Albúmina Bovina al 22%\* la -- cual servirá como control.
- c).- A cada tubo de ensaye, se agrega una gota de la sus<sup>u</sup> pensión al 5% de glóbulos rojos.
- d).- Se incuban en baño de agua ambos tubos a 37°C du-- rante 15 minutos.
- e).- Después de incubar, se lavan 3 veces los glóbulos rojos de cada tubo con solución salina fisiológica. Se decanta el sobrenadante del último lavado.
- f).- Se agrega a cada tubo 2 gotas de suero anti-globu- lina humana\*.
- g).- Se centrifuga durante 15 segundos a 3,400 rpm.

\* ORTHO DIAGNOSTICS

h).- Se agita cuidadosamente y se observa la aglutinación.

Reactivos:

R-1: Solución salina fisiológica.

NaCl ----- 0.85 g

Agua destilada ---- 100.00 ml

Se pesan 0.85 g de cloruro de sodio, se disuelven en agua destilada y se afora a 100.00 ml.

R-2: Suspensión de glóbulos rojos al 5% en solución salina fisiológica.

a).- Aproximadamente a 5 ml de solución salina (R-1) se le añaden varias gotas de sangre completa (fresca o con anticoagulante).

b).- Se centrifuga el tiempo suficiente para empaquetar los glóbulos rojos.

c).- Se retira el sobrenadante.

d).- Se añaden 0.25 ml del paquete de células a un tubo de ensaye conteniendo 4.75 ml de solución salina fisiológica (R-1) y se mezcla. Se remueven los fragmentos de coágulo que pudieran estar presentes.

## RESULTADOS

En el transcurso de la investigación se analizaron 700 - muestras sanguíneas, de las cuales 580 fueron positivas al factor Rh y 120 resultaron negativas a este factor. - En la tabla 1 se muestra la frecuencia con que el factor Rh apareció en las muestras analizadas.

Tabla 1

Frecuencia del factor Rh en las muestras analizadas.

Factor Rh	No. de muestras	%
POSITIVO	580	82.85
NEGATIVO	120	17.15
TOTAL	700	100.00

De las 120 muestras sanguíneas aparentemente Rh negativas, una resultó Du positiva, por lo tanto, se obtuvieron 119 muestras verdaderamente Rh negativas y 581 muestras Rh - positivas, tomando en cuenta la muestra Du positiva. En la tabla 2 se presenta la frecuencia con que el factor - Du apareció en las muestras sanguíneas Rh negativas analizadas.

Tabla 2

Frecuencia del factor Du en las muestras  
Rh negativas.

Factor Rh	No. de muestras	%
Rh NEGATIVO	119	99.16
Du POSITIVO	1	0.84
TOTAL	120	100.00

Debido a que se obtuvo una muestra Du positiva y a que - se considera a los portadores del factor Du como Rh positivos, el porcentaje presentado inicialmente de muestras Rh negativas y Rh positivas analizadas, se altera. En la tabla 3 se muestra la frecuencia real de muestras Rh negativas y Rh positivas que se obtuvieron en la investigación.

Tabla 3

Frecuencia real de muestras Rh positivas y Rh negativas en el total de muestras analizadas.

Factor Rh	No. de muestras	%
Rh POSITIVO	580	83.00
Du POSITIVO	1 } 581	
Rh NEGATIVO	119	17.00
TOTAL	700	100.00

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

En el transcurso de esta investigación, se analizaron --  
700 muestras sanguíneas en busca de portadores de uno de  
los factores variantes del Rh, es decir, del factor Du.  
Dentro de las muestras analizadas, se encontraron 120 --  
Rh negativas, de las cuales una resultó portadora del --  
factor Du, esto nos conduce a obtener un porcentaje para  
portadores de este factor del 0.84 el cual concuerda con  
el citado en la literatura revisada al efectuar esta in-  
vestigación.

Es importante la determinación del factor Du en cada --

muestra Rh negativa obtenida en el laboratorio, en ocasiones debido a la baja frecuencia de portadores del Du, se excluyen los métodos para su determinación de los manuales de trabajo de laboratorio sin dar importancia al hecho de que el factor Du está relacionado con enfermedades del recién nacido como es la anemia hemolítica ó la eritroblastosis fetal y con las reacciones de incompatibilidad que se presentan al efectuar ciertas transfusiones sanguíneas.

La eritroblastosis fetal, como se explicó anteriormente, es una enfermedad del recién nacido caracterizada por -- anemia hemolítica, esplenomegalia, etc., la cual puede manifestarse en diferentes grados dependiendo de la sensibilización de la madre. En el caso de una madre Du positiva embarazada que da a luz a un niño Rh positivo se presentaría el mismo riesgo de sensibilización que en el caso de una madre Rh negativa, ya que el paso de los glóbulos rojos Rh positivos del niño provocan cierta estimulación del sistema inmune dado que el antígeno Rh común al ser introducido a un individuo portador del factor Du es considerado como extraño por el organismo. De esta forma ocurre la sensibilización en la madre pudiendo presentarse la eritroblastosis fetal en un segundo embarazo Rh positivo.

En el caso en que la madre sea Rh negativa y el niño Du



positivo, a la hora del alumbramiento, pasarían los glóbulos rojos del hijo a la madre, lo que provocaría su -- sensibilización y como consecuencia se podrían presentar enfermedades relacionadas con el recién nacido en un segundo embarazo Rh positivo o Du positivo.

En relación a las transfusiones, es importante realizar un examen completo de cada muestra Rh negativa en busca de algún factor variante del Rh que pueda impedir la aglutinación con suero anti-Rh como es el caso de los portadores del factor Du. Un individuo Du positivo no podrá recibir sangre Rh positiva ya que se podría producir una sensibilización al no reconocer el organismo al antígeno Rh común como propio. El individuo portador del factor Du únicamente podrá recibir sangre Rh negativa ya que estos glóbulos rojos no poseen ningún antígeno de este grupo sanguíneo que el sistema inmune pueda reconocer como extraño y por lo tanto no ocurrirá la sensibilización.

Por todo lo antes mencionado, se recomienda realizar un análisis minucioso y completo de cada muestra Rh negativa, de esta forma se evitarían las reacciones post-transfusionales y las enfermedades en el recién nacido que pueden ocasionar desde una anemia hasta un daño permanente en las células cerebrales.

## RESUMEN

Se hizo un estudio para determinar la frecuencia de portadores de la variante Du.

El trabajo consistió en analizar 700 muestras sanguíneas obtenidas al azar de laboratorios de Hospitales y Clínicas particulares y de Servicio Social. De las muestras analizadas 580 resultaron ser positivas al factor Rh y 120 negativas a este factor. De las 120 muestras Rh negativas, una de ellas resultó portadora del factor Du (0.84%), es decir, Du positiva.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bauer, J. D., Ackerman, P. G., and Toro, G. 1974. Clinical Laboratory Methods. 8th Ed. Mosby, Saint Louis.
2. Bellanti, J. A. 1972. Inmunología. Interamericana, México.
3. Bush, M., Sabo, M., and Masouredis, S. P. 1974. Red cell D antigen sites and titration scores in a family with weak and normal Du phenotypes inherited from a homozygous Du mother. Transfusion. 14: - 433-439.

4. Davidsohn, I., and Bernard, J. H. 1974. Tood-Sanford Clinical Diagnosis by Laboratory Methods. -- 15th Ed. W. B. Saunders, Philadelphia.
5. Frankel, S., Reitman, S., and Sennenwirth, A. C. 1970. Gradwhol's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. 7th Ed. Mosby, Saint Louis.
6. Fudenberg, H. H., Pink, J. R. L., Wang, A., and Douglas, S. D. 1978. Basic Immunogenetics. 2nd Ed. Oxford University Press, New York.
7. Gardner, E. J. 1975. Principles of Genetics. 5th Ed. John Wiley and Sons, New York.
8. Levine, P., Celano, M. J., Falkowski, F., Chambers, J., Hunter, D. B., and English, C. T. 1965. A second example of ---/--- or Rh null Blood. Transfusion. 5: 492-500.
9. Masouredis, S. P., Sudora, E. J., Mahan, L., and Victoria, E. J. 1976. Antigen site densities and ultrastructural distribution patterns of red cell Rh antigens. Transfusion. 16: 94-105.
10. Masouredis, S. P., Dupuy, M. E., and Elliot, M. 1967. Relationship between Rho(D) zygosity and red cell antigen content in family members. J. Clin. Invest. 46: 681-692.
11. Williams, J. W., Beutler, E., Erslev, A. S., and Rundles, W. 1972. Hematology. 2nd Ed. Mc Graw-Hill, New York.

12. Wintrobe, M. M., Lee, R. G., Bedges, D. R., Bithell, T. C., Athens, J. N., and Feerster, J. 1974. -- Clinical Hematology. 7th Ed. Henry Kimpton Publishers, London.
13. Zaino, E. C., and Applewhaite, F. 1975. Antibodies to part of the Rho antigen complex occurring in -- two women with Rho variants. Transfusion. 15: - 256-259.
14. Zmijewski, Ch. M. 1978. Immunohematology. 3th Ed. Appleton-Century-Crofts, New York.

1. ...  
2. ...  
3. ...  
4. ...  
5. ...  
6. ...  
7. ...  
8. ...  
9. ...  
10. ...

801139