

**EVALUACIÓN DE AUTOCONTROLES POSITIVOS EN PACIENTES CON CÁNCER  
DEL INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA.**

**DIANA FERNANDA HUERGO G.  
YENNY MARCELA SALGADO**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
CARRERA DE BACTERIOLOGÍA  
SANTAFÉ DE BOGOTÁ, D.C., 2001**

**EVALUACIÓN DE AUTOCONTROLES POSITIVOS EN PACIENTES CON CÁNCER  
DEL INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA**

**DIANA FERNANDA HUERGO G.  
YENNY MARCELA SALGADO**

**TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE BACTERIOLOGA**

---

**Directora**

**Dra. LUCIA DEL PILAR CORTES SEGURA  
Médico Especialista en Medicina Transfusional  
Jefe del Banco de Sangre del  
Instituto Nacional de Cancerología**

**PONTIFICA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTA DE CIENCIAS  
CARRERA DE BACTERIOLOGÍA  
SANTAFÉ DE BOGOTÁ D.C., 2001**

**Nota de Aceptación:**

-----  
-----  
-----  
-----  
-----

-----

**JURADO**

-----

**JURADO**

**SANTAFÉ DE BOGOTÁ, D.C., 2001**

**A DIOS.**

**A NUESTROS PADRES**

**Hernando, Marleny, Jorge, y Rosalba.**

**A NUESTROS HERMANOS**

**Hernán, Mauricio, Rosalba, Olga, y Judith.**

**A NUESTROS FAMILIARES.**

**A Juan F. Muñoz, Marta Mahecha, Hernán Villate C.**

**Lina Paola Guzmán, Daniel Alberto Guzmán.**

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores expresan sus agradecimientos a:

La Dra. LUCIA DEL PILAR CORTES, Médico especialista Medicina Transfusional y Directora del Trabajo de Grado, por su colaboración y orientación para el desarrollo del presente trabajo.

A todas las Bacteriólogas, Secretarias, Enfermeras y Auxiliares del Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología que de alguna u otra forma colaboraron y suministraron la información necesaria para poder llevar a cabo toda la Evaluación de Autocontroles Positivos en Pacientes con Cáncer.

## **LISTA DE ANEXOS**

- Anexo 1. Representación Esquemática de las Reacciones.
- Anexo 2. Representación Esquemática de las Reacciones.
- Anexo 3. Patrones de Lecturas de las Reacciones.
- Anexo 4. Patrones de Lectura de Reacciones.
- Anexo 5. Importancia Clínica de los anticuerpos.

## **LISTA DE CUADROS**

- Cuadro 1 Clasificación de las Anemias Inmuno hemolíticas.
- Cuadro 2 Enfermedades Autoinmunes Mediadas por Anticuerpo.
- Cuadro 3 Técnicas de Elución de Anticuerpos.
- Cuadro 4 Diseño experimental.

## **LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1. Reacciones de los Anticuerpos Inducidos por Drogas.
- Figura 2. Mecanismos de Adsorción de Drogas.

## **LISTA DE TABLAS**

Tabla 1. Algunas Cefalosporinas.

Tabla 2. Algunas drogas que pueden inducir anticuerpos independientes de droga (autoanticuerpos).

Tabla 3. Información General.

Tabla 4. Transfusiones.

Tabla 5. Resultados de Pruebas Realizadas.

Tabla 6. Técnicas de Elución e Identificación de Anticuerpos.

Tabla 7. Comportamiento de los Sistemas ABO y RH.

Tabla 8. Comportamiento del Rastreo de Anticuerpos Irregulares.

Tabla 9. Comportamiento del Coombs Directo.

Tabla 10. Comportamiento del Autocontrol.

Tabla 11. Características de los Pacientes con Cáncer.

Tabla 12. Identificación de anticuerpos en Pacientes con Cáncer y con Autocontrol Positivo Realizados con el Eluato.

Tabla 13. Tipo de Droga.

Tabla 14. Tiempo Tomando la Droga.

Tabla 15. Tipo de Droga.

Tabla 16. Tiempo con el Cáncer.

Tabla 17. Antecedentes Transfusionales.

## CONTENIDO

	Pág
INTRODUCCIÓN	1
1. OBJETIVOS	4
1.1. Objetivo General	4
1.2. Objetivos Generales	4
2. JUSTIFICACIÓN	5
3. MARCO TEORICO	7
3.1. INMUNOLOGIA DE LOS SISTEMAS DE ANTÍGENOS	7
3.1.1. Comportamiento serológico de los Anticuerpos de grupos sanguíneos	7
3.1.2. Sistema Rh	8
3.1.3. Sistema Lewis	8
3.1.4. Sistema Kell	9
3.1.5. Sistema Kidd	9
3.1.6. Sistema Duffy	10
3.1.7. Sistema P	10
3.1.8. Sistema MNSs	11
3.2. INMUNIZACIÓN POR ANTÍGENOS DE GRUPO SANGUÍNEO	11
3.3. RESPUESTA DEL SISTEMA INMUNE FRENTE A ALOINMUNIZACIÓN	12
3.3.1. Anemias hemolíticas extracorpúsculares	13
3.3.1.1. Anemias inmunohemolíticas	13
3.3.1.1.1. Aloanticuerpos o Isoanticuerpos	14
3.3.1.1.2. Anemias inmunohemolíticas de anticuerpo caliente	15
3.3.1.1.3. Anemias inmunohemolíticas por acticuerpos fríos	16
3.3.1.1.4. Autoanticuerpos	16
3.3.1.1.5. Anticuerpos inmuoalérgicos	16
3.3.1.2. No inmunológicas	17

3.4. EXPRESIÓN DE ANTÍGENOS ERITROCITARIOS EN NEOPLASIAS	18
3.4.1. Expresión de antígenos ABO	18
3.4.2. Expresión de antígenos Lewis	20
3.5. EXPRESIÓN DE ANTÍGENOS ERITROCITARIOS EN NEOPLASIAS	22
3.5.1. Pulmón	22
3.5.2. Mama	23
3.5.3. Colon	23
3.5.4. Gástrico	24
3.5.5. Vejiga	25
3.5.6. Ovario	26
3.5.7. Recto	26
3.6. GEL TEST (Gel centrifugación)	26
3.7. PRINCIPIOS DE LA TÉCNICA	27
3.7.1. Composición del gel	27
3.7.2. Forma de los microtubulos de las tarjetas	28
3.7.3. Condiciones de centrifugación	28
3.7.4. Volúmenes	28
3.7.4. Obtención y lectura de aglutinación en el gel test	29
3.8. VENTAJAS DE LA TÉCNICA	30
3.8.1. Estandarización de procedimientos, reacciones e interpretaciones	30
3.8.2. Test de Coombs sin lavado	31
3.9. CAUSAS DE ERROR	31
3.10. ALMACENAMIENTO	31
3.11. DESCARTE DEL MATERIAL UTILIZADO	32
3.12. TEST DE ANTIGLOBULINA DIRECTA POSITIVO (DAT) Y DESTRUCCIÓN DE GLÓBULOS ROJOS MEDIADA POR INMUNIDAD	32
3.12.1. Significado de DAT positivo	32
3.12.2. Test de Antiglobulina Directa	34
3.12.3. Evaluación de DAT positivo	34
3.12.3.1. Importancia de la prueba	34

3.12.3.2. Estudios serológicos	35
3.12.3.3. Elución	35
3.12.3.4. Adsorción de autocontroles	37
3.13. TEORIAS DE LA RESPUESTA INMUNE Y AC DEPENDIENTES DE DROGAS	38
3.13.1. Clasificación serológica y clínica	41
3.13.2. Anticuerpos reactivos con células dependientes de drogas adherentes: Tipos de anticuerpos de penicilina	41
3.13.2.1. Observaciones generales	43
3.13.2.2. Los anticuerpos de penicilina	43
3.13.2.3. Cefalosporinas	44
3.13.3. Otros Ac dependientes de droga: Mecanismo del complejo Inmune	46
3.13.4. Ac dependientes de drogas: producción de Ac	48
3.13.5. Adsorción de proteínas no inmunológicas	50
4. MATERIALES Y METODOS	52
4.1. MODELO DE ESTUDIO	52
4.2. TIPO DE ESTUDIO	54
4.3. TIPO DE MUESTREO	54
4.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN	54
4.5. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	54
4.6. TOMA DE MUESTRA	55
4.7. VARIABLES DE ESTUDIO	55
4.8. DETERMINACIÓN DE GRUPO ABO / D CON PRUEBA INVERSA	55
4.9. RASTREO DE ANTICUERPOS IRREGULARES (RAI)	57
4.10. PRUEBA DE COOMBS DIRECTO	57
4.11. IDENTIFICACIÓN DE AC IRREGULARES	58
4.12. METODOS DE ELUCIÓN	59
4.12.1. Elución con Cloroformo	59
4.12.1.1. Reactivos	60
4.12.1.2. Procedimiento	60

4.12.1.3. Nota	60
4.12.2. Elución con Glicina Hcl / Edta	61
4.12.2.1. Reactivos	61
4.12.2.2. Procedimiento	61
4.12.2.3. Nota	62
4.12.3. Elución de ácido para autoanticuerpos (Diacidel)	62
4.12.3.1. Reactivos	63
4.12.3.2. Procedimiento de elución	63
4.13. RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN	64
4.14. ANÁLISIS DE DATOS ESTADÍSTICOS	64
4.14.1. Recolección de datos estadísticos	64
4.14.2. Análisis y representación de resultados	65
4.15. ANÁLISIS DE LAS GRAFICAS	65
5. RESULTADOS	66
5.1. INFORME DE RESULTADOS	66
6. DISCUSIÓN	68
6.1. IDENTIFICACIÓN DE LOS ANTICUERPOS	69
6.2. NECESIDAD TRANSFUSIONAL Y NEOPLASIA	72
6.3. NEOPLASIA Y QUIMIOTERAPIA	73
7. CONCLUSIONES	74
8. RECOMENDACIONES	75
BIBLIOGRAFÍA	
MATERIAL ACOMPAÑANTE	
ANEXOS	

## RESUMEN

El Gel Test (gel centrifugación) es un nuevo método para: microtipificación de grupos sanguíneos, investigación/identificación de anticuerpos irregulares, pruebas de compatibilidad sanguínea pre-transfusional; que representa una nueva forma de lectura de las reacciones de aglutinación, sin dudas de interpretación.

La técnica de elución tiene como objetivo interferir con las fuerzas no covalentes que soportan el complejo antígeno-anticuerpo en la superficie de los glóbulos rojos. Las membranas de la célula puede ser físicamente rota por calor, ultrasonido, congelamiento, descongelamiento, detergentes o solventes orgánicos.

La expresión de antígenos en tumores malignos se correlaciona de una manera estrecha con cambios fenotípicos que ocurren en las células bajo los efectos de la transformación neoplásica.

En el presente trabajo se realizarán las técnicas de gel test y la elución con el fin de evaluar los autocontroles positivos en pacientes con cáncer; además identificar la causa de la presencia de autocontroles positivos en estos pacientes.

Se tratará de analizar las posibles causas de la presencia de autocontroles como por tumor, drogas y transfusiones.

También se investigará que las drogas administradas por los pacientes con cáncer pueden causar una variedad de efectos adversos en inmunohematología.<sup>2</sup> Ya que algunas drogas inducen la formación de anticuerpos contra cualquier droga o contra antígenos intrínsecos de glóbulos rojos que pueden dar un resultado positivo en DAT, destrucción de glóbulos rojos inmune, ó en ambos.

Se incluyeron 19 pacientes con Neoplasias de diferente origen, a los que se les encontró autocontrol positivo, quienes fueron atendidos en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología; en el periodo comprendido entre Agosto a Octubre del 2001; el total de pacientes atendidos con cáncer fue de 220.

En el comportamiento del autocontrol de las 220 muestras 19 dieron un resultado positivo; lo que quiere decir que los anticuerpos encontrados en las pruebas anteriores eran autoanticuerpos adquiridos por estos pacientes ya sea por el tratamiento, transfusiones o por el mismo tumor; y en el caso de las mujeres por previos embarazos.

Se observa que la mayoría de los pacientes con autocontrol positivo pertenecen al sexo femenino con un 63,1%, comparado con un 36,8% del sexo masculino; la edad promedio en el grupo de estudio fue 46,4%, numero de transfusiones promedio 57,8% y para todo el grupo de estudio se encontró un 8,6% de sensibilización por antígenos eritrocitarios.

Se agrupan las neoplasias de acuerdo a sistemas, y edad promedio. Así la mayor parte de los pacientes tratados 52,6% del total de la población de estudio reporta diversas neoplasias relacionadas con Leucemias y Linfomas, siguiendo el reporte de casos con un 15,7 % Neoplasias que implican el Cáncer de Mama.

También se muestran que el 57,8% de los pacientes fueron transfundidos y el 42,1 % no se les realizó transfusión alguna; en el periodo comprendido entre agosto-octubre de 2001.

## INTRODUCCIÓN

La expresión de antígenos en tumores malignos se correlaciona de una manera estrecha con cambios fenotípicos que ocurren en las células bajos los efectos de la transformación neoplásica.<sup>17</sup>

En una publicación en 1993 por Narita, se estudio la implicación clínica que conlleva la presencia de ciertos carbohidratos relacionados con grupos sanguíneos del sistema ABH y otros sistemas antigénicos menores en relación con células neoplásicas.<sup>13</sup>

Otros estudios, entre ellos los realizados por Hakamori <sup>6</sup>, han encontrado relación entre transformaciones de los tumores y cambios ocurridos en la membrana de los glóbulos rojos respecto a la expresión de antígenos producto del cáncer, hechos evidenciados en su mayoría por técnicas a nivel histológico e inmunoquímico.

Se ha demostrado que la delección de epitopes A o B asociado con acumulaciones de los precursores H conducen a un aumento en el grado de malignidad, asociando estas delecciones a cambios en la actividad de la glicosiltransferasa que conllevan a un mayor grado de invasividad y metástasis, además de disminución en la sobrevida de los pacientes.<sup>6</sup>

Así mismo, es posible darse cuenta que la progresión del tumor esta dada a través de la influencia de procesos específicos de adhesión, invasividad, inmunogenicidad y otros sistemas de reconocimiento inmune.<sup>6</sup> También, en otras publicaciones se destaca estos antecedentes mostrando que las propiedades invasivas de células tumorales son conocidas en diferentes mecanismos como actividad proteolítica, motilidad quimiotáctica y habilidad apoptotica para causar angiogenesis.<sup>14</sup>

El Gel Test (gel centrifugación) es un nuevo método para: microtipificación de grupos sanguíneos, investigación/identificación de anticuerpos irregulares, pruebas de compatibilidad sanguínea pre-transfusional; que representa una nueva forma de lectura de las reacciones de aglutinación, sin dudas de interpretación.

El método Diamed-ID Micro Typing System, desarrollado por Diamed-Suiza, es un sistema de tarjetas con seis microtubos de reacciones, que permiten ejecutar todos los tests inmunohemtológicos como: estandarización de toda rutina, sensibilidad incomparable, lecturas objetivas y reacciones estables por 48 horas o más, Coombs sin lavado de hematíes, mayor bioseguridad y automatización de toda rutina. El gel utilizado es Sephadex G100 superfino. Se presenta en tres preparaciones básicas, de acuerdo con los tests de gel centrifugación ofrecidos por ID-System: gel neutro, gel específico y gel antiglobulina.<sup>4</sup>

La técnica de elución tiene como objetivo interferir con las fuerzas no covalentes que soportan el complejo antígeno-anticuerpo en la superficie de los glóbulos rojos. Las membranas de la célula puede ser físicamente rota por calor, ultrasonido, congelamiento, descongelamiento, detergentes o solventes orgánicos.<sup>1</sup>

Los pacientes con neoplasias generalmente son politransfundidos, así que, si se asocia el desarrollo de inmunización a los antígenos eritrocitarios menores, junto a

aloanticuerpos provenientes de antígenos no HLA unidos a células sanguíneas que están en circulación cobra gran importancia en la práctica de la medicina transfusional.

El uso de un adecuado hemoderivado suministrado durante la transfusión con el objeto de disminuir a una mínima parte las posibilidades de desarrollar anticuerpos, buscando siempre una mejoría en el clínico del paciente.

En el presente trabajo se realizarán las técnicas de gel test y la elución con el fin de evaluar los autocontroles positivos en pacientes con cáncer; además identificar la causa de la presencia de autocontroles positivos en estos pacientes.

Se tratará de analizar las posibles causas de la presencia de autocontroles como por tumor, drogas y transfusiones.

También se investigará que las drogas administradas por los pacientes con cáncer pueden causar una variedad de efectos adversos en inmunohematología.<sup>2</sup> Ya que algunas drogas inducen la formación de anticuerpos contra cualquier droga o contra antígenos intrínsecos de glóbulos rojos que pueden dar un resultado positivo en DAT, destrucción de glóbulos rojos inmune, ó en ambos.

Algunos de los anticuerpos producidos parecen ser dependientes en la presencia de la droga para su detección o la capacidad destructiva mientras otros no. En algunos casos, un DAT reactivo puede ser el resultado de efectos inmunológicos de las drogas. Los químicos medio ambientales pueden causar efectos serológicos y clínicos similares. Estos incluye los hidrocarburos clorados y químicos usados en los tintes y en procesos industriales.<sup>10</sup>

Al llevar a cabo los objetivos propuestos, el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología brindará a sus pacientes con neoplasias una mejor calidad de atención en todos los procedimientos transfusionales.

## **1. OBJETIVOS**

### **1.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar las posibles causas de los autocontroles positivos encontrados en pacientes con cáncer utilizando el Gel Test y diferentes técnicas de elución .

### **1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Investigar si hay alguna droga que tenga interferencia con los autocontroles positivos en pacientes con cáncer.
- Evaluar la importancia de los autocontroles positivos en pacientes con cáncer y los anticuerpos encontrados.

## 2. JUSTIFICACIÓN

En numerosos carcinomas se ha evidenciado la expresión de antígenos eritrocitarios relacionados A, B, H y familia de antígenos menores; aunque muchos de estos se expresan en el epitelio de muchos tejidos normales y en secreciones, niveles elevados se han encontrado en los tumores y hacen de ellos blancos adecuados para el diagnóstico con anticuerpos directos que facilitan una mejor orientación en la terapia de un paciente que tenga cualquier tipo de neoplasia.<sup>6,19.</sup>

En la última década, los investigadores de esta área de competencia, han hecho muchos esfuerzos, pero aún así persisten varios interrogantes en relación con los factores, que en cualquier momento, pueden favorecer a disminuir las complicaciones clínicas, pronóstico de vida y sobrevida total en pacientes con diferentes etiologías de tumores neoplásicos.

En el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología en pro de una calidad transfusional ha implementado desde hace más de un año la técnica de Gel Centrifugación, en las pruebas de Inmunohematología de donantes y pacientes realizando estudios de anticuerpos como parte de las pruebas pretransfusionales y también como parte de las pruebas que se le realizan a la sangre donada, realizándole el grupo sanguíneo ABO y Rh, Coombs directo, rastreo de anticuerpos y pruebas cruzadas.

Se considera de importancia llevar a cabo este estudio porque permitirá evaluar las posibles causas de los autocontroles positivos en pacientes que presenten cualquier tipo de cáncer, ya que en un estudio anterior realizado entre septiembre y noviembre del año 2000, aquí en el Instituto Nacional de Cancerología el cual se presentó que 16 pacientes de 230 analizados tenían presencia de autoanticuerpos positivos, por ello se propuso abrir una línea de investigación que permitiera determinar el tipo de inmunoglobulinas implicadas y su relación con drogas de tratamiento antineoplásico.

El presente trabajo esta orientado a evaluar la importancia de los autocontroles positivos en pacientes con cáncer e investigar cuales drogas tienen interferencia es estos autocontroles; teniendo en cuenta la eficiencia de las técnicas utilizadas y la eficacia ó el aprovechamiento de los recursos que se tienen, para darles a los pacientes una mayor calidad transfusional.

### **3. MARCO TEORICO**

#### **3.1. INMUNOLOGIA DE LOS SISTEMAS DE ANTIGENOS**

##### **3.1.1. *COMPORTAMIENTO SEROLÓGICO DE LOS ANTICUERPOS DE GRUPOS SANGUÍNEO***

Los anticuerpos de grupo sanguíneo se clasifican según su comportamiento serológico así como por sus propiedades físico-químicas específicas. La serología se basa en los patrones de reacción observados en el Banco de Sangre.

Las aglutininas salinas, son anticuerpos de grupo sanguíneo que aglutinan a los glóbulos rojos en suspensión salina. Pueden ser anticuerpos fríos o calientes.

Por lo general los anticuerpos aglutinantes de los grupos sanguíneos pertenecen a las inmunoglobulinas clase M y habitualmente son de tipo frío. Los anticuerpos anti A, Anti B, Anti Lewis, Anti P, Anti M y Anti N suelen ser aglutinantes, a diferencia de casi todos los anticuerpos resultantes de los grupos sanguíneos.

Los demás anticuerpos reaccionan con los glóbulos rojos sensibilizándolos, pero no los aglutinan por sí mismos. Solo lo hacen cuando se usa albúmina sérica, suero antiglobulina o alguna enzima proteolítica. La mayoría son inmunoglobulinas G, con pocas excepciones actúan mejor a 37°C.

### **3.1.2. SISTEMA Rh**

Los anticuerpos Rh se producen por transfusión que contiene el antígeno Rh del que carezca del receptor, también por embarazo al cruzar hematíes fetales por placenta. Los anticuerpos Rh son pocas veces naturales, por eso, el sistema Rh es muy diferente del ABO.

El más inmunogénico de los antígenos Rh es el D. Se estima que una sola transfusión de Rh positivo a Rh negativo produce una inmunización del 80% en el individuo. El siguiente es el E, producido casi por los positivos y en la mayor parte de los casos por transfusión. Los anticuerpos Anti-E son naturales y lo que hace la transfusión o el embarazo es estimular los ya formados. Cuando se produce un Anti-E en personas Rh1Rh1, aproximadamente la mitad de ellos produce un Anti-c y escasas veces se forma Anti-e.

Los anticuerpos Rh que se encuentran por primera vez son IgM, detectables en suspensiones de glóbulos rojos, sin embargo estos anticuerpos son transmitidos y desaparecen sin explicación. Si la persona vuelve a estimularse, los anticuerpos serán IgG, IgA e IgM al reincidir la exposición.

### **3.1.3. SISTEMA LEWIS**

Los anticuerpos Lewis reaccionan a temperaturas bajas con glóbulos rojos en solución. Otros reaccionan a temperaturas más altas, otros se potencian con enzimas, algunos son positivos en coombs y finalmente otros son hemolíticos por fijar complemento como lo hace el Anti-Lea si se tratan los glóbulos rojos con enzimas proteolíticas. Los anticuerpos que se crean contra los antígenos Lea y Leb son producidos por personas con fenotipo Le(a-b-), tienen como característica evadirse, unas veces son detectados otras no en la misma persona. Los

anticuerpos anti-Lewis fijan el complemento. Precisan de estabilidad porque tienden a desaparecer quizás por la falta de complemento.

#### **3.1.4. SISTEMA KELL**

Los antígenos del sistema K están presentes en células, glóbulos rojos y granulocitos y no en las células corporales como el Lewis. Los anticuerpos aparecen por estímulo antigénico definido, mayormente por transfusión. Puede también encontrarse IgM por estímulo de E.coli, el anticuerpo desaparece al desaparecer la infección. El K es un factor muy inmunogénico, aunque probablemente menor que el D. Con una unidad K+ el porcentaje es del 10%.

#### **3.1.5. SISTEMA KIDD**

En el sistema Kidd (JK) son antígenos que parecen tener una inmunogenicidad baja, pero es posible encontrar anticuerpos por transfusión. Estos anticuerpos causan reacciones transfusionales y eritoblastosis fetal. Parece ser que estos anticuerpos tienen estrecha relación con los antígenos HLA y se ha visto individuos que tienen Anti HLA, observándose una actividad Anti-Jka o Anti-JKb.

El Anti-Jka y Anti-JKb producidos en personas JK(a+b+) puede absorberse usando no de personas JK(a-b-). Tienen estos anticuerpos características especiales que los hace potencialmente peligrosos en transfusión y es fundamentalmente a descender en títulos después de haber aparecido.

En estos casos se produce una respuesta rápida tras una segunda exposición de glóbulos aparentemente compatibles y pueden dar lugar a una reacción tardía después de la transfusión, hasta una semana después. La reacción es grave, los

glóbulos rojos transfundidos se eliminan a los pocos días de transfundidos, produce anemia e incluso puede llevar a la muerte.

Son estos anticuerpos peligrosos por la dificultad de detectarlos porque presentan el fenómeno de dosis frente a los antígenos heterólogos, además se presentan fuertes reacciones hemolíticas tardías aunque “in vitro” reaccionan produciendo hemólisis muy débil.

### **3.1.6. SISTEMA DUFFY**

El sistema Duffy, (Fy) incluye 6 antígenos. Parecen tener inmunogenicidad débil. Se encuentran en personas poli-transfundidas y que poseen otros anticuerpos de grupo sanguíneo.

Los anticuerpos Ky3, Fy4 y Fy5 reaccionan bien cuando los glóbulos rojos se tratan con enzimas proteolíticas mientras que para Fya y Fyb no ocurre igual. Los anticuerpos Duffy no aglutinan los glóbulos rojos tratados con enzimas. Los anticuerpos pueden producir diversos tipos reacciones transfusionales, y a veces son responsables de EHRN.

### **3.1.7. SISTEMA P**

Los anticuerpos anti-P1 suelen detectarse en pruebas pretransfusionales, sobretodo si se incluye una prueba de anticuerpos a temperatura ambiente, pero el sistema como tal tiene escasa implicación clínica.

Se afirma que las personas P2 pueden presentar con frecuencia anti-P<sub>1</sub> si las pruebas se realizan a bajas temperaturas. El anti-P<sub>1</sub> puede activar el

complemento a 37°C y el anticuerpo de baja temperatura puede acortar la supervivencia de los glóbulos rojos transfundidos, se pueden ingresar estos anticuerpos clínicamente si no reacciona a temperatura arriba de 22°C.

Si se detecta un anti-P<sub>1</sub> a 37° por la técnica antiglobulina se seleccionará una unidad de sangre P<sub>2</sub> compatible para transfusión.

### **3.1.8. SISTEMA MNSs**

Los anti-M y anti-N son anticuerpos completos con actividad en frío, pueden en ocasiones reaccionar a 37°C o incluso con la prueba de coombs y producir reacciones transfusionales y rara vez eritoblastosis. Estos anticuerpos suelen presentar un efecto de dosis. En persona con fenotipo MM, MN y NN pueden haber anti-N.

Los anticuerpos S y s se encuentran mayormente como anticuerpos incompletos después de una transfusión. Pueden producir reacciones transfusionales y EHRN.

## **3.2. INMUNIZACIÓN POR ANTÍGENOS DE GRUPO SANGUÍNEO**

Al hacer la transfusión, el receptor recibe muchos antígenos que no poseía antes, a pesar de ello la incidencia de inmunización postransfusional es algo baja, pero en los individuos poli transfundidos es realmente significativa, los anticuerpos que más se producen son el Rh, Duffy y Kell.

De los antígenos de grupo sanguíneo más comunes, el inmunógeno más potente es el D del sistema Rh más que C, E, c, Kell o Duffy. Los factores de grupo

sanguíneo diferentes del D –Rho- son inmunógenos débiles, y no es frecuente encontrar inmunización por aloanticuerpos tras una transfusión.

Durante años se ha admitido que la incidencia de inmunización a los factores Kell y c era diferente en el individuo inmunizado por transfusión que aquellos inmunizados por embarazo.

### **3.3. RESPUESTA DEL SISTEMA INMUNE FRENTE A ALOINMUNIZACIÓN**

En algunos sistemas el complemento participa realmente en los complejos antígeno-anticuerpo y forma parte de ellos. Al ocurrir esto en la reacción de ciertos anticuerpos de grupo sanguíneo, esos quedan cubiertos por los componentes del complemento C3d así como el anticuerpo específico. La unión del glóbulo rojo con el complemento es mucho más estable que la que hay entre anticuerpo y glóbulo rojo. En estos casos una prueba de sensibilidad por el complemento será un índice fiable de la reacción antígeno-anticuerpo previa.

Los anticuerpos que reaccionan en frío como el Anti-Lewis, a veces pueden detectarse mejor por estas pruebas de sensibilidad por complemento. De esta manera, el complemento es esencial en cualquier prueba de anticuerpos de grupo sanguíneo que tenga como punto final la hemólisis de los glóbulos rojos.

Los anticuerpos anti-A y otros Lewis, P o Kidd pueden producir la hemólisis, además de la aglutinación y el complemento puede fácilmente permitir su identificación y clasificación durante las pruebas cruzadas o de grupos sanguíneos.

### **3.3.1. ANEMIAS HEMOLÍTICAS EXTRACORPUSCULARES**

En este tipo de trastorno los glóbulos rojos están sanos y su medio ambiente los destruye, se pueden dividir en:

- Inmunológicas
- No inmunológicas

#### **3.3.1.1. INMUNOLÓGICAS –ANEMIAS INMUNOHEMOLÍTICAS:**

Mediado por un mecanismo antígeno-anticuerpo, aquí hay anticuerpos específicos que se dirigen al GR y lo destruyen.

Hay inmunoglobulinas contra el GR, específicamente contra los subgrupos Rh (generalmente). Estos son antígenos de superficie, como también lo son los antígenos A y B de los grupos sanguíneos clásicos.

#### **Cuadro 1. Clasificación de las Anemias Inmuno hemolíticas.**

##### **TIPO AC CALIENTE**

- PRIMARIO: Idiopático
- SECUNDARIO: Linfomas y leucemias (CLL, Linfoma No Hodking) SLE.

##### **TIPO AC FRÍO**

- AGUDO: Infecciones por Micoplasma, Mononucleosis infecciosa.
- CRÓNICAS: Idiopáticas; relacionado con linfomas

El diagnóstico depende de la demostración de anticuerpos contra los glóbulos rojos, sea cual sea la causa.

### 3.3.1.1.1. ALOANTICUERPOS O ISOANTICUERPOS:

Anticuerpos de distintos sujetos de la misma especie, aquí esta la clásica incompatibilidad ABO o la del Rh. La persona que es Rh(-) no tiene anticuerpos anti Rh, pero al entrar en contacto con el Rh(+) ahí forma anticuerpos, pero la persona que tiene grupo sanguíneo O (que no tiene ningún antígeno de superficie) tiene desde que nace anti A y anti B, estas se llaman aglutininas naturales, ya que tienen anticuerpos contra algo que no tienen.

#### **Cuadro 2. Enfermedades Autoinmunes Mediadas Por Anticuerpo**

<b>Enfermedad</b>	<b>Características</b>	<b>Mecanismos Efectores</b>	<b>Especificidad Acs detectados</b>	<b>Método detección</b>
AHAI	*Anemia  *Hemolisis	*fagocitosis  dependiente de complemento.	*Proteínas de Los eritrocitos	*Hemaglutinación

### **3.3.1.1.2. ANEMIAS INMUNOHEMOLÍTICAS DE ANTICUERPO CALIENTE:**

Se caracterizan por la presencia de anticuerpos inmunoglobulina G que son activos a 37°C. Más del 60% de los casos son idiopáticos por lo que pertenece a la categoría de enfermedades autoinmunes.

Alrededor del 25% de los pacientes sufre procesos secundarios como presencia de SLE y/o anemia provocadas por fármacos.

- **Patogenia:**

Se produce la opsonización de los glóbulos rojos por los anticuerpos IgG, seguida por fagocitosis por macrófagos esplénicos.

En los mecanismos de hemólisis por fármacos, como la  $\infty$ - Metildopa provocan anemias que no puede distinguirse de la forma idiopática primaria de la anemia hemolítica. Se forman autoanticuerpos dirigidos contra los antígenos intrínsecos de hematíes, en partículas de antígenos de grupo sanguíneo Rh.

Se cree que fármacos como la penicilina actúan como haptenos, se fijan a la membrana del eritrocito y provocan la formación de anticuerpos antifármaco. Estos anticuerpos se unen a la penicilina fijada a la célula y predisponen a esta a la destrucción fagocitada por el bazo.

En la quinidina, esta se fija a las proteínas plasmáticas y desencadenan una respuesta de anticuerpo. Los complejos formados por proteína-fármaco y moléculas de anticuerpos se depositan entonces en las membranas de los glóbulos rojos y los lesionan por su sola presencia.

#### **3.3.1.1.3. ANEMIAS INMUNOHEMOLÍTICAS POR ANTICUERPO FRÍO:**

Se caracterizan por la presencia de anticuerpo IgM tienen su actividad a temperatura de 30°C. El proceso hemolítico se presenta por fijación de complemento sobre eritrocitos cubiertos de inmunoglobulina M.

Una vez los hematíes están revestidos de anticuerpo y complemento, son eliminados de la circulación por las células del RE, en partículas de las Kupffer.

La anemia resultante es leve, pasajera, son de mayor importancia clínica. La formación crónica de aglutininas frías y la anemia hemolítica consiguiente, también pueden presentarse relacionadas con los trastornos linfoproliferativos o como proceso idiopático.

#### **3.3.1.1.4. AUTOANTICUERPOS:**

El organismo en un momento determinado, considera que sus propios GR son extraños y los comienza a destruir, existen dos tipos:

*Primarias: se producen sin explicación conocida.*

*Secundarias: en este caso forma parte de otra enfermedad (LES, LINFOMA, y CÁNCER).*

#### **3.3.1.1.5. ANTICUERPOS INMUNOALÉRGICOS:**

Aquí están presentes las drogas, estas actúan como antígenos incompletos (Haptenos) que más el antígeno de superficie del glóbulo rojo dan origen al anticuerpo.

### 3.3.1.2 NO INMUNOLÓGICAS:

- CAUSAS:

**Parásitos:** en la malaria estallan los GR.

**Bacterias:** estreptococo beta hemolítico, E.coli, Perfringens (abortos inducidos).

**Venenos:** prótesis cardíacas, coagulación intravascular diseminada (CID) y circulación extracorpórea.

- CARACTERÍSTICAS:

Son intravasculares en general, distinguiéndose de las demás. Se rompen en la circulación, en los tipos anteriores la destrucción se producía en el SER y en la circulación era mínima, por lo tanto se caracterizan por Hemoglobinemia, la Hemoglobina puede estar normal, pero el hematocrito esta muy disminuido o puede no haber hematocrito.

En general las anemias hemolíticas intravascular tienen un curso agudo, a diferencia de las extravasculares que tienen, más bien, un curso crónico con crisis caracterizadas por ictericias, esplenomegalia y anemia.

En la incompatibilidad de grupo clásico severo se puede producir una hemólisis intravascular, también puede darse en alguna primaria que sea tan grave que el SER es sobrepasado y no es capaz de captar toda la hemoglobina.

### **3.4. EXPRESIÓN DE ANTÍGENOS ERITROCITARIOS EN NEOPLASIAS.**

A pesar de las bases bioquímicas y moleculares usadas en la investigación de antígenos eritrocitarios, aún permanece incierto el panorama, particularmente en pacientes con neoplasias.

La expresión de antígenos en tumores malignos se correlacionan cerradamente con los cambios fenotípicos que ocurren en las células bajo efectos de transformación neoplásica. En algunas de ellas, la pérdida de antígenos cualesquiera puede estar asociada con el comportamiento agresivo del tumor y un pronóstico pobre.<sup>8</sup>

La expresión de los antígenos de grupo sanguíneo A, B y H está presente en los eritrocitos, células endoteliales y muchos tipos de células epiteliales y sus secreciones.<sup>6</sup> Cada órgano y tejido en el cuerpo tiene un patrón de características que permiten la expresión. En procesos malignos, este patrón se altera y una de las características es que se pierde la expresión de alguno de estos antígenos A, B o H que derivan de tejidos epiteliales.<sup>8</sup>

Así, diferentes neoplasias llevan a que se expresen antígenos eritrocitarios relativos en los sistemas ABH y Lewis. La elevada expresión de antígenos relativos de grupos sanguíneos se ha estudiado en un grupo no muy amplio de carcinomas.<sup>16</sup>

#### **3.4.1. *EXPRESIÓN DE ANTÍGENOS ABO.***

La expresión de los antígenos de grupo sanguíneo A, B y H está presente en los eritrocitos, células endoteliales y muchos tipos de células epiteliales y sus secreciones.<sup>19</sup>

Cada órgano y tejido en el cuerpo tiene un patrón de características que permiten la expresión. El grupo ABO sanguíneo sobre tejido neoplásico tiene influencia en la respuesta humoral y celular, así, el patrón se altera y una de las características es que se pierde la expresión de alguno de estos antígenos A, B o H que derivan de tejidos epiteliales.<sup>17</sup>

Muchos tumores asociados a antígenos carbohidratos tienen una relación estructural con los alo antígenos eritrocitarios ABH se forman frecuentemente en la misma estructura precursora.<sup>12</sup>

Los antígenos ABH están distribuidos ampliamente en células del epitelio y el endotelio y disminuyen o desaparecen en procesos de oncogénesis como se ha descrito en estudios previos como el concluyente por Lloy, Ko en 1987 donde los antígenos provenientes de grupos sanguíneos se usaron como marcadores tanto de diferenciación normal como de procesos neoplásicos en tejidos humanos.<sup>12</sup>

La progresión del tumor, esta dado a través de la influencia de procesos de adhesión, invasión, inmunogenicidad y otros sistemas de reconocimiento inmune. Hakamori refiere que algo ocurre explícitamente con los antígenos y una larga variedad de cáncer es la delección de un epitope A o B asociado con acumulaciones de sus precursores H Le(y), Le(b) los cuales incrementan el grado de malignidad.<sup>6</sup>

La expresión versus delección de los antígenos A y B en tumores está correlacionado con la actividad transferasa A y B.<sup>8</sup> Hakamori en estudios publicados entre 1995 y 1996 concluyó que de los muchos tipos de glicosilación aberrante expresado en cáncer humano, la reducción o delección de epitopes de A y B han estado claramente correlacionados con las propiedades invasivas y

propiedades metastásicas de tumores y con las tasas de supervivencia de los pacientes.<sup>6,8.</sup>

Estos cambios fenotípicos en cáncer humano están bajo el control de aún un no identificado mecanismo que inhibe o regula la transcripción de genes A o B,<sup>8</sup> sin embargo los resultados encontrados en estudios publicados en 1996 indican que ocurren presumiblemente a través de expresiones aberrantes de factores de transcripción.<sup>8</sup>

En 1998, Ichikawa junto Hakamori en estudios diferentes concluyeron que de los muchos tipos de glicosilación expresada en cáncer humano la delección o reducción de las epitopes de grupos sanguíneos A y B se correlacionan con las propiedades invasivas y metastásicas de tumores en relación con la malignidad en cáncer gastrointestinal, pulmón, cervix, carcinoma oral, uterino, páncreas, tracto digestivo y vejiga,<sup>8</sup> sin embargo, una correlación entre desaparición del antígeno y el pronóstico de pacientes ha sido examinado en pocos casos.

### **3.4.2. EXPRESIÓN DE ANTÍGENOS LEWIS.**

La alterada expresión de los antígenos relativos a Lewis durante procesos de transformación maligna ha sido clínicamente usado como marcadores tumorales o como indicadores de pronóstico.<sup>17</sup>

El antígeno Lewis se ha encontrado presente en individuos que nunca han sido transfundidos ni han recibido estímulo antigénico al ser este un anticuerpo natural de tipo IgM. Sin embargo, ha recibido atención por su alta expresión en numerosos tipos de patologías neoplásicas incluyendo colón, gástrico, pulmón, mama, y ovario.<sup>19</sup>

El antígeno Lewis ha sido correlacionado con apoptosis en tejidos normales y en tejidos tumorales bajo el efecto de muerte celular programada.<sup>16</sup> La expresión de Lewis se conoce que está controlada por estados secretores de grupos sanguíneos.<sup>19</sup>

Es posible que los tumores que no expresen el antígeno provengan de pacientes que no tengan estado secretor. Hakomori refiere que algo que ocurre explícitamente con los antígenos y una larga variedad de cáncer es la delección de un epitope A o B asociado con acumulaciones de sus precursores H (Le(y), Le(b)) los cuales incrementan el grado de malignidad.<sup>6</sup>

Narita plantea que cambios neoplásicos pueden acompañarse por cambios en los antígenos de superficie celular, con la pérdida de expresión antigénica. Muchos de estos carbohidratos de los antígenos en diferentes neoplasias se presentan en forma de glicolípidos y glicoproteínas y están considerados como productos de síntesis anormales de carbohidratos asociados a cariogénesis.

Si bien hay muchos carbohidratos antígenos en tumores del epitelio, se está poniendo en claro que ellos son parte de los llamados antígenos relativos de Grupos Sanguíneos, principalmente el grupo Lewis, y en muchas de las investigaciones, en su mayoría se usan técnicas inmunohistoquímicas para detectarlos en una variedad de neoplasias.<sup>13</sup>

Muchos reportes demuestran que el fenotipo Lewis de los eritrocitos cambia con varias condiciones, incluyendo carcinomas, pero ellos tratan mayormente con eritrocitos y saliva por medio de evidencias inmunohistoquímicas.<sup>6</sup>

El incremento del antígeno Lewis en suero de pacientes con cáncer se presume antecede el cambio de grupo sanguíneo para ello existen a disposición técnicas e inmunoensayos que solamente detectan antígenos específicos porque a diferencia de los que están presentes en saliva, en suero existen muy pequeñas cantidades como para que sean medibles cuantitativamente.<sup>6</sup>

### **3.5. EXPRESIÓN DE ANTÍGENOS ERITROCITARIOS EN NEOPLASIAS.**

#### **3.5.1. PULMÓN:**

Tanto el concepto clínico como el terapéutico dividen el cáncer de pulmón en: Cáncer de células pequeñas, (SCLC) y cáncer de células no pequeñas (NSCLC) (adenocarcinoma, células escamosas y carcinoma de células grandes) que abarca un 75-80% de los casos, siendo la cirugía una de las mejores modalidades en etapas tempranas del mismo.

En consecuencia pacientes con tumores que retienen antígenos eritrocitarios ABH compatibles en cáncer de pulmón, muestran un mejor pronóstico que aquellos pacientes con alteración del perfil antigénico.<sup>6</sup> La pérdida del antígeno eritrocitario del grupo B es más significativa y afecta al individuo al favorecer la metástasis hematógena y empeorar el pronóstico que si la pérdida fuera antígenos A y H.

En carcinoma de pulmón, se ha sugerido que la desaparición del antígeno A muestra ser un factor pronóstico favorable para el NSCLC; sin embargo, en estos estudios correlacionan solamente la metástasis a distancia. En algunos estudios se ha encontrado que la pérdida de antígenos ABH en cáncer de pulmón examinando la correlación entre expresión de antígenos de grupos se observó

más frecuentemente en tumores con metástasis que aquellos sin ella. Además la metástasis hematológica en cáncer de pulmón se correlaciona estrechamente con la pérdida antigénica.

Cuando se analiza la expresión de un solo antígeno contra no-expresión no se encuentra diferencia alguna en la supervivencia entre los pacientes que reúnen o no esta condición en NSCLC. La declinación del antígeno A, aparentemente puede ocurrir debido a un incremento en los niveles de los precursores biosintéticos, el antígeno H.<sup>12</sup>

Es una hipótesis que la ausencia de antígeno A se deba a la pérdida de actividad de la transferasa A la cual es seguida por fusilación en el precursor inmediato de A (llamado H).<sup>12</sup> Narita encontró que la pérdida de antígeno A está acompañada por un incremento en la expresión del antígeno Le<sup>y</sup>.

### **3.5.2. MAMA:**

Desde la aplicación de anticuerpos monoclonales en la inmunobiología del tumor, se ha descubierto un numeroso grupo de antígenos que han sido usados como marcadores tumorales, como el CA 15-3 en cáncer de Mama.<sup>12</sup> Muchos de estos carbohidratos de los antígenos en diferentes neoplasias se presentan en forma de glicolípidos y glicoproteínas y están considerados como productos de síntesis anormales de carbohidratos asociados a carcinogénesis. Además, si bien hay muchos carbohidratos antígenos en tumores del epitelio, se está poniendo en claro que ellos son parte de los llamados antígenos relativos de grupos sanguíneos.

### **3.5.3. COLON:**

Se mostró en un estudio que las células epiteliales del colón distal no expresaban los antígenos ABH pero si estaba bajo condiciones proliferativas malignas si lo hacían<sup>15</sup> argumentando que un número de glicosidas están envueltas en la biosíntesis de glicoconjugados, de este modo se produce la aparición de antígenos eritrocitarios derivados de tejidos que normalmente no expresan esos antígenos a consecuencia de la glicosilación de proteínas y de lípidos en la superficie de las células tumorales.

Narita, en 1994 concluyó que la aumentada expresión de antígenos Le<sup>b</sup> en cáncer distal de colón es causada principalmente a una elevada regulación de la enzima Se y parte de la enzima H, mientras que en los cánceres de colón proximal, la característica más apreciable es que se evidencia una sobre regulación de solamente la enzima H. La dosificación del gen Se, influencia profundamente la cantidad de los antígenos Le<sup>a</sup>/Le<sup>b</sup> y sLe<sup>a</sup> en todos los tejidos de colón prescindiendo de si ellos son normales o tumorales.

En el cáncer de colón, un incremento de la actividad del núcleo de la cadena tipo 2 enzima  $\beta$ 1-3N-AcetilGlucosaminil Transferasa resulta en una incrementada formación de estructuras en cadena tipo 1 y 2 tal como en los antígenos ABH y Lewis.<sup>14</sup>

La delección de isoantígenos ABH ha sido reportada ser un marcador pronóstico adverso en pacientes con tumores sólidos ya que la progresión del tumor esta dada a través de la influencia de procesos específicos de adhesión, invasividad, inmunogenicidad y otros sistemas de reconocimiento inmune.

#### **3.5.4. GÁSTRICO:**

El cáncer gástrico es uno de los más comunes causas de muerte en el mundo.<sup>12</sup> A pesar de los avances en técnicas diagnósticas para su detección temprana y el

progreso en procedimientos de cirugía, el pronóstico de los pacientes, es insatisfactorio debido a que la alteración de la expresión asociada a potencial metastático de células cancerígenas.<sup>15</sup>

El rol de sLe<sup>x</sup> y sLe<sup>a</sup> en cáncer gástrico se ha mostrado en observaciones que incluyen la habilidad de los anticuerpos que bloquean la adhesión a células tumorales del endotelio de células in vitro, la correlación de la expresión del antígeno con el incremento de potencial metastático de células de cáncer y el efecto inhibitorio de los anticuerpos en la angiogenesis.

Además, la importancia potencial del incremento de la expresión de los antígenos sLe<sup>x</sup> y sLe<sup>a</sup> a sido considerada un indicador significativo de pronóstico independiente del indicador patológico establecido.

### **3.5.5. VEJIGA:**

La pérdida de expresión de los antígenos ABO(H) en tumores de vejiga es un evento frecuente el cual, ya a sido previamente documentado.<sup>14</sup> En el cáncer de vejiga, la pérdida de actividad alelica de la glicosiltransferasa A y B está asociada a la falta de expresión de las mismas por baja regulación del transcrito de genes ABO. Esto lleva a la acumulación de Le<sup>b</sup> debido a la fucosilación del exceso de antígeno H formado destacándose la alta frecuencia de fenotipo le(a-b) en procesos neoplásicos.

Los antígenos ABO están perdidos de la superficie de la célula en los tumores de vejiga, se cree que este fenómeno está relacionado con uno de los frecuentes hallazgos de monosomía del cromosoma número 9 o con pérdida de heterocigocidad de pares cromosomales que involucran la región 9q34, el cual es el locus para el gen ABO pero esta última opción no es responsable de la pérdida de expresión de los antígenos ABH porque todos los tumores lo tienen.

Además la pérdida de estos antígenos esta asociada significativamente con un curso de recurrencia, invasión hacia nódulos linfáticos y metástasis.<sup>14</sup>

### **3.5.6. OVARIO:**

La causa inmediata en cáncer de ovario es más hacia la ausencia o inactividad de la apropiada glicosiltransferasa envuelta en la biosíntesis final de los epitopes ABH ó la pérdida de uno o más glicosiltransferasas envueltas en la síntesis de cadenas de carbohidratos que forman los precursores de las estructuras ABH.

La habilidad de las macromoléculas que llevan las estructuras del grupo sanguíneo, como las mucinas o los glicolípidos, puede también tener influencia en la expresión de los antígenos ABH en cáncer de ovario.<sup>22</sup>

### **3.5.7. RECTO:**

En el recto, una  $\alpha$  1-2 fucosiltransferasa se activa en los carcinomas, la cual lleva a la formación de la estructura A, la cual de nuevo, en individuos A o B, está elongada para formar los antígenos A y B.<sup>14</sup>

## **3.6. GEL TEST (Gel centrifugación)**

Es un nuevo método para:

- Microtipificación de grupos sanguíneos
- Investigación / identificación / titulación de anticuerpos irregulares;
- Pruebas de compatibilidad sanguínea pre-transfusional; que representa una nueva forma de lectura de las reacciones de aglutinación, sin dudas de interpretación.

El nuevo método, DiaMed-Id Micro Typing System, desarrollado por DiaMed-Suiza, es un sistema de tarjetas con seis microtubos de reacciones, que permiten ejecutar todos los test inmunohematológicos como:

- Estandarización de toda rutina;
- Sensibilidad incomparable;
- Lecturas objetivas y reacciones estables por 48 horas o más;
- Mayor seguridad, pudiendo los resultados inclusive ser documentados por fotocopia.
- Coombs sin lavado de hematíes;
- Racionalización del tiempo de trabajo;
- Mayor bioseguridad
- Automatización de toda la rutina.

Un concepto enteramente nuevo en Inmunohematología que, por el considerable aumento de calidad, revolucionó millares de Laboratorios Transfusionales en todo el mundo.<sup>4</sup>

### **3.7. PRINCIPIOS DE LA TECNICA**

#### ***3.7.1. COMPOSICIÓN DEL GEL***

- EL Gel utilizado es Sefadex G100 superfino. Se presenta en tres preparaciones básicas, de acuerdo con los tests de Gel Centrifugación ofrecidos por el ID-System:
- Gel Neutro: sin antisuero específico;
- Gel Especifico: mezcla gel / antisuero
- Gel Antiglobulina: mezcla gel / antiglobulina humana.

### **3.7.2. FORMA DE LOS MICROTUBOS DE LAS TARJETAS**

- La extremidad superior del microtubo es larga, de manera que permite la incubación de los reactivos por encima del Gel.
- La parte intermedia que contiene el gel es larga y estrecha, para asegurar un contacto prolongado de los Hematíes con el gel durante la centrifugación.
- El fondo del microtubo es cónico para que los Hematíes, que atravesaron el Gel después de la centrifugación, formen un botón en el fondo del tubo, facilitando la lectura.

### **3.7.3. CONDICIONES DE CENTRIFUGACIÓN**

La centrifugación debe ser de 70g por 10 minutos y el eje del microtubo debe estar exactamente alineado con la dirección de la fuerza centrífuga durante la centrifugación. Solo se deben utilizar las centrífugas propias del sistema.<sup>4</sup>

Una alteración en la rotación podrá provocar:

Rotaciones bajas ..... Reacciones falsas positivas

Rotaciones altas ..... Reacciones falsas negativas

### **3.7.4. VOLÚMENES**

El volumen de glóbulos por microtubo (0.4 a 0.5 ul), que es 4 a 5 veces menor que en el test tradicional en tubo, mejora la relación Suero / Hematíes sin aumentar el volumen de suero.

### **3.7.5. OBTENCIÓN Y LECTURA DE AGLUTINACIÓN EN EL GEL TEST**

- La aglutinación ocurre en los microtubos durante el proceso de centrifugación.
- Los hematíes, que son más densos que el gel, tienden a atravesar el gel, mientras que el medio en el cual están suspendidos permanece encima del gel en función del gradiente específico de centrifugación.
- Cuando los glóbulos no son aglutinados por anticuerpos, los glóbulos son retenidos por el gel durante la centrifugación, pudiendo presentarse patrones de 1 a 4 cruces.
- Cuando se aglutinan, por la acción de los anticuerpos, los glóbulos son retenidos por el gel durante la centrifugación, pudiendo presentarse patrones de 1 a 4 cruces
- En los geles específicos (para Fenotipaje de grupos sanguíneos), la aglutinación y la captura de los glóbulos por el gel suceden de inmediato, al inicio de la centrifugación.
- En los geles con Antiglobulinas (para investigación e identificación de anticuerpos) los glóbulos son sensibilizados por anticuerpos durante la fase de incubación y retenidos por la Antiglobulina Humana en gel, durante la centrifugación (coombs sin lavados).<sup>4</sup>

### **3.8. VENTAJAS DE LA TÉCNICA**

#### **3.8.1. ESTANDARIZACIÓN DE PROCEDIMIENTOS, REACCIONES E INTERPRETACIONES**

- Reactivos pre-distribuidos en volúmenes exactos y listos para su uso.
- Volúmenes exactos de muestras, distribuidos con pipetas automáticas.
- Idéntico procedimiento para las pruebas de fenotipificación.
- Idéntico procedimiento para investigación / identificación de anticuerpos y para pruebas de compatibilidad pre-transfusional.
- Reacciones positivas débiles y negativas son siempre las mismas, independientemente de la Bacterióloga o del laboratorio que ejecuta el test.
- Determinación directa de la verificación del D Débil (Du).
- Ninguna variación de interpretación de los resultados de una Bacterióloga a otra.
- Resultados objetivos, sin dudas de interpretación, con la consecuente disminución del stress de las Bacteriólogas.

### **3.8.2. TEST DE COOMBS SIN LAVADOS**

Como los glóbulos son más densos que el gel, tienden a atravesar el gel durante la centrifugación mientras el medio en el cual estaban suspendido permanece encima del gel.

Solamente si los glóbulos estuvieran sensibilizados por anticuerpos serán retenidos por el gel que contiene Antiglobulina Humana, en caso contrario atravesaran el gel sedimentándose en el fondo del microtubo.

De esta forma el proceso de lavado es substituido por el gradiente de centrifugación, economizando tiempo y facilitando el trabajo.<sup>6</sup>

### **3.9. CAUSAS DE ERROR**

- Presencia de fibrina en la muestra de sangre.
- Almacenamiento inadecuado.
- Rotación inadecuada durante la centrifugación.

### **3.10. ALMACENAMIENTO**

Entre 18° y 25° C (T.A). Evitar calor y ventilación directa. No congelar.

### **3.11. DESCARTE DEL MATERIAL UTILIZADO**

Después de su uso debe ser eliminado y considerado como potencialmente infectante, ya que hay presencia de material de origen humano.<sup>4</sup>

### **3.12. TEST DE ANTIGLOBULINA DIRECTA POSITIVO (DAT) Y DESTRUCCIÓN DE GLÓBULOS ROJOS MEDIADA POR INMUNIDAD**

#### ***3.12.1. SIGNIFICADO DE UN DAT POSITIVO***

El test de antiglobulina directa (DAT) es usado generalmente para determinar si los glóbulos rojos están unidos, en vivo, con inmunoglobulinas, complemento, o ambos.<sup>1</sup>

Un DAT positivo, con o sin supervivencia corta de los glóbulos rojos, puede resultar de:

- Autoanticuerpos para antígenos de glóbulos rojos intrínsecos.
- Aloanticuerpos circulantes en el receptor, reaccionan con antígenos de los glóbulos rojos del donador en una transfusión reciente.
- Aloanticuerpos en plasma del donante, derivados de plasma, o fracciones de sangre que reaccionan con antígenos de los glóbulos rojos en una transfusión para el receptor.
- Aloanticuerpos maternos en circulación que cruzan placenta y se unen a glóbulos rojos del feto.

- Anticuerpos directos contra ciertas drogas que se unen a la membrana de glóbulos rojos (penicilina).
- Proteínas adsorbidas, incluyendo inmunoglobulinas, que atacan a membranas anormales o glóbulos rojos modificados por terapia con ciertas drogas, notablemente del grupo de las cefalosporinas.
- Complemento o raramente IgG unida a glóbulos rojos después de la administración de drogas tales como quinidina y fenacetina han inducido a una interacción droga/antidroga.
- Inmunoglobulinas, anticuerpos no asociados con glóbulos rojos en pacientes con hipergammaglobulinemia o receptores con altas dosis intravenosas de gammaglobulina.
- Anticuerpos producidos por linfocitos pasajeros en transplante de órganos.

Un DAT positivo no necesariamente quiere decir que los glóbulos rojos de una persona tienen una corta supervivencia. Pequeñas cantidades de ambos IgG y Complemento aparecen en todos los glóbulos rojos. Un rango de 5-90 moléculas de IgG/glóbulos rojos y 5-97 moléculas de C3d/glóbulos rojos (posiblemente entre 500 o más) parecen ser normales en las células de individuos sanos.<sup>1</sup>

El DAT como rutina realizada, se puede detectar un nivel de 100-500 moléculas de IgG/glóbulos rojos y 400-1100 moléculas de C3d/glóbulos rojos, aunque reactivos más nuevos y pruebas más sensitivas pueden detectar niveles bajos de estas proteínas.

Donadores de sangre con DAT positivo parecen estar perfectamente sanos aunque algunos signos se manifiestan incrementando la destrucción de células o desarrollo de la Anemia Hemolítica Autoinmune (AIHA).<sup>1</sup>

Niveles elevados de IgG o de complemento son conocidos en los glóbulos rojos de pacientes con enfermedades de células de hoz, B-talasemia, enfermedades renales, mieloma múltiple, desordenes autoinmunes (incluyendo lupus eritematoso sistémico), HIV-SIDA y otras enfermedades con globulina sérica elevada o niveles de BUN en sangre con una correlación no clara entre DAT positivo y anemia. La interpretación de DAT positivo debe incluir la historia del paciente, datos clínicos y otros resultados de pruebas de laboratorio.

### **3.12.2. TEST DE ANTIGLOBULINA DIRECTA**

Si los glóbulos rojos de una muestra coagulada dan DAT positivo, los resultados pueden ser confirmados en células frescas con anticoagulante EDTA.

Los DATs son inicialmente analizados con un reactivo poliespecífico capaz de detectar IgG y C3d; pruebas con más especificidad anti-IgG y reactivos anti complemento pueden ser apropiados. Ocasionalmente reactivos poliespecíficos de antiglobulina reaccionan con células unidas a otras proteínas diferentes a IgG o C3d (IgM, IgA o otros componentes del complemento).

### **3.12.3. EVALUACIÓN DE DAT POSITIVO**

#### **3.12.3.1. IMPORTANCIA DE LA PRUEBA:**

En las consideraciones clínicas se puede dictaminar la importancia por la cual un DAT positivo es evaluado. La interpretación del significado de los resultados serológicos requiere conocimiento acerca del diagnóstico del paciente. Drogas

recientes, embarazo e historia de transfusiones; y la información de la presencia de anemia hemolítica adquirida o inexplicable. Los resultados de las pruebas serológicas no son diagnóstico, estos deben ser valorados en conjunción con la información clínica y datos de laboratorio tales como hematocrito, bilirrubina, haptoglobulina y recuento de reticulocitos.

### **3.12.3.2. ESTUDIOS SEROLÓGICOS:**

3 investigaciones aprobadas son de buena ayuda en la evaluación de DAT positivo:

- Prueba de DAT positivo en células con reactivos anti-IgG y anti C3d para caracterizar los tipos de proteínas unidas a los glóbulos rojos.
- Prueba de suero/plasma para detectar e identificar anticuerpos clínicamente significativos para antígenos de glóbulos rojos.
- Prueba en eluato preparado de la unión de glóbulos contra un panel de antígeno-glóbulos rojos para definir si la unión de proteínas tiene actividad de aloanticuerpos.

### **3.12.3.3. ELUCIÓN:**

La elución de anticuerpos libres de glóbulos rojos sensibilizados y recuperándolos en una forma útil. En el cuadro 3 esta la lista de las ventajas y desventajas de muchos métodos comunes de elución; no hay un método de elución ideal en todas las situaciones. Sin embargo muchos métodos de elución dañan o destruyen los

glóbulos rojos, ciertas técnicas remueven el anticuerpo pero dejan células lo suficientemente intactas que pueden ser tipificadas por varios antígenos o usados para propósitos de adsorción. Algunos antígenos pueden ser alterados por elución, sin embargo y con controles adecuados es esencial. Cuando la causa del DAT positivo es desconocida, un eluato puede ser preparado y probado en contra de un panel de glóbulos rojos. En casos de enfermedades de cáncer o de reacciones de transfusión hemolítica, anticuerpo específico (o anticuerpo) es detectado en la elución. Usualmente la misma especificación puede ser detectada en el suero del paciente, sin embargo la técnica de elución ayuda en la identificación del anticuerpo cuando las reacciones del suero son débiles. Cuando el eluato reacciona con todas las células de la prueba, el autoanticuerpo es la explicación más parecida, especialmente si el paciente no ha sido recientemente transfundido. Cuando anticuerpos no esperados se encuentran presentes en el suero y si el paciente no ha sido recientemente transfundido, no es necesario hacer una prueba serológica de autoanticuerpos aislados.

### Cuadro 3. Técnicas de Elución de Anticuerpos

TÉCNICAS DE ELUCIÓN DE ANTICUERPOS

MÉTODO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Calor (56°C)	Bueno para ABO; método rápido y fácil.	Pobre recuperación de otro grupo de alo y autoanticuerpos
Congelamiento - Descongelamiento	Bueno para ABO; método rápido y fácil; requiere pequeños volúmenes de células.	Pobre recuperación de otro grupo de alo y autoanticuerpos
Acido Frio	Método rápido y fácil; sensibilidad comparable con el ácido digitonina.	Menos sensitivo para alo y autoanticuerpos calientes.
Acido Digitonina	No es peligroso; buen recuperador de la mayoría de los anticuerpos disponibles en el kit comercial.	Consumo tiempo en lavado del estrom; menos sensitivo para anticuerpos del sistema Kidd.
Diclorometano (DCM)	Bueno para anti-K; no es inflamable.	Tóxico; pobre recuperador de anti-Fy <sup>a</sup> b.
Cloroformo	Método rápido; no inflamable; recupera la mayoría de anticuerpos de los grupos de sangre.	Carcinogénico, tóxico, narcótico; menos sensitivo que la Xilina y el Eter.
Xilina	Recupera la mayoría de anticuerpos de los grupos de sangre.	Inflamable, cancerígeno, tóxico, narcótico; hemólisis de las células ensayadas si la Xilina residual no es removida.
Eter	Excelente recuperando la mayoría de los grupos de sangre.	Altamente inflamable, explosivo, tóxico, narcótico; requiere almacenamiento especial; pobre recuperador de anti-S, -s.

Algunas veces no es detectada una reactividad en el eluato, a pesar de la reactividad de las células con un anti-IgG específico. La causa puede ser que el eluato no fue ensayado en contra células positivas del antígeno correspondiente, notablemente células del grupo A o B. Los antígenos de baja incidencia también están ausentes en la mayoría de los paneles de células.

La reactividad de los eluatos puede ser mejorada ensayando contra células tratadas con enzimas o por el uso de una fase sólida u otras técnicas mejoradas, tales como Glicol-polietil (PGE). Al lavar los glóbulos rojos con una solución salina con baja fuerza iónica (LISS), en lugar de una solución salina normal, puede prevenir la pérdida de anticuerpos mientras que las células están siendo preparadas para la elución.

Ciertos métodos de elución dan pobres resultados con ciertos anticuerpos. Cuando los eluatos no son reactivos aún si los signos clínicos de destrucción de glóbulos rojos están presentes, la elución por un método diferente puede ser de ayuda. Si ambos, el suero y el eluato no son reactivos en todas las fases de la prueba, y si el paciente ha recibido altas dosis de penicilina intravenosa u otra terapia con drogas, la prueba es necesaria hacerla para demostrar que los anticuerpos relacionados con drogas deben considerarse. Los pacientes pueden tener un DAT positivo y un eluato no reactivo con evidencia de no hemolisis y no es usualmente indicado realizar una búsqueda exhaustiva de una explicación.

#### **3.12.3.4. ADSORCIÓN DE AUTOCONTROLES:**

En un paciente quien no ha tenido recientemente una transfusión, la adsorción de autocontrol es la mejor forma de detectar aloanticuerpos en presencia de autoanticuerpos reactivos calientes. El suero adsorbido puede usarse en la rutina del procedimiento de detección de anticuerpos.

La autoadsorción generalmente requiere preparación inicial de los glóbulos rojos del paciente. A 37°C, en vivo la adsorción puede ocurrir y todos los antígenos del paciente propios de los glóbulos rojos pueden ser bloqueados.

El tratamiento de los autocontroles de los glóbulos rojos con enzimas proteolíticas también incrementan esta capacidad de adsorber autoanticuerpos. Una mezcla de papaina y ditiotretol, es algunas veces usada en el tratamiento de células, el sulfidril hace que las moléculas de IgG sean más susceptibles a la proteasa y a la disociación del anticuerpo de la célula. Múltiples, adsorciones secuenciales pueden ser necesarias si el suero contiene niveles altos de anticuerpos. Algunos autoanticuerpos pueden ser removidos, la adsorción del suero es examinado para la actividad aloanticuerpo.<sup>4</sup>

### **3.13. TEORIAS DE LA RESPUESTA INMUNE Y ANTICUERPOS DEPENDIENTES DE DROGAS**

Numerosas teorías han sugerido cómo las drogas inducen una respuesta inmune y qué relación puede tener el DAT positivo y la destrucción de células observadas en algunos pacientes. Por muchos años, el DAT positivo asociado a droga fue clasificado dentro de cuatro mecanismos: Adsorción de la droga, formación del complejo inmune, adsorción no específica y producción de anticuerpos. Tal clasificación ha sido útil, pero muchos aspectos faltaron definitivamente o mecanismos detallados.

Teorías más recientes, tienden hacia un acercamiento más aplicable a todas las drogas, permitiendo manifestaciones diferentes.<sup>10</sup>

La mayoría de las drogas tiene normalmente un peso molecular a bajo del nivel 5-Kda considerado el umbral de una inmunogenicidad efectiva. Las drogas pueden actuar como haptenos, mientras que los anticuerpos se unen firmemente a o se vuelven portadores de la proteína.

Las teorías actuales proponen que las drogas saquen anticuerpos, basados en su habilidad de interactuar con componentes específicos de la membrana celular, de este modo alterando los componentes normales así para que ellos ya no se reconozcan como el mismo. Una nueva configuración o el “neoantígeno” se produce, consistiendo de ambos, de droga y el componente celular, y el sistema inmunológico del huésped percibe estos neotígenos como extraños. El anticuerpo se produce directamente contra el “neoantígeno”, no contra el compuesto hapténico.<sup>1</sup>

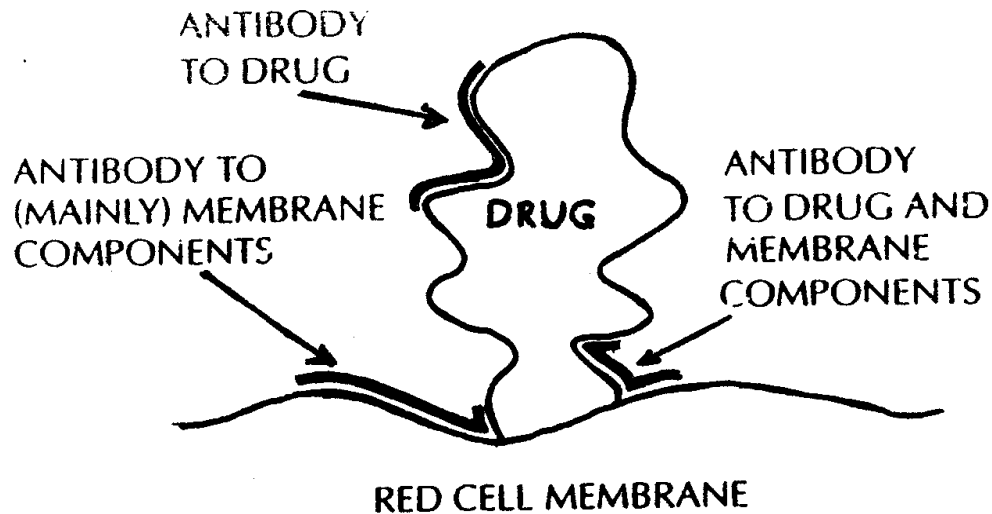
Esta teoría asume que las drogas con una afinidad variable unidas a los componentes de membrana se presentan en glóbulos rojos, granulocitos o plaquetas. El grado de asociación sería esperado para reflejar tales factores como la estructura química de la droga o sus metabolitos, la concentración de la droga, la estructura de la membrana celular de las proteínas y la capacidad de asociar las proteínas del huésped con la droga (dependen del pH, la temperatura, fuerza iónica y de los factores genéticos del huésped). Porque las condiciones deben ser correctas para crear una afinidad suficientemente alta para provocar una respuesta inmune, casos como la inmunidad inducida por drogas.<sup>10</sup>

La respuesta inmune policlonal provocada por una configuración consta de anticuerpos que pueden reconocer como mínimo tres categorías de epitopes.

Algunos reaccionan esencialmente con la propia porción de droga, algunos con las combinaciones de la droga y componentes celulares, y otros con componentes esenciales de la membrana celular. (Ver Figura 1).

En algunos casos los glóbulos rojos u otros tipos específicos de células, son los objetivos primarios, mientras en otro momento una variedad de tipos celulares puede afectarse.<sup>7</sup>

Figura 1.



*teoría propuesta unificada de reacciones del anticuerpo inducido por droga. Las líneas más oscuras representan los sitios de unión del antígeno. Las drogas (Hapteno) se ligan firmemente, a las membranas celulares y los anticuerpos pueden hacerse a:*

*A. la droga (producción in vitro de reacciones típicas de una reacción de droga (penicilina)); B. Los componentes de la membrana, o principalmente los componentes de la membrana (producción in vitro de reacciones típicas de autoanticuerpos); C. Parte de la droga, parte del componente de membrana (producción in vitro de la reacción típica del llamado mecanismo del complejo inmune)<sup>1</sup>*

### **3.13.1. CLASIFICACIÓN SEROLÓGICA Y CLÍNICA**

Los anticuerpos inducidos por drogas pueden ser clasificados dentro de tres grupos según conforme a sus características clínicas y serológicas. En un grupo la droga se une firmemente a la membrana celular y el anticuerpo es aparentemente más largo, dirigido contra la droga misma. Esto es conocido como el mecanismo de adsorción de la droga, los anticuerpos a penicilina son los mejores descritos de este grupo.

En el segundo grupo los anticuerpos dependientes de droga reaccionan con drogas que no se unen a la membrana celular. El mecanismo reactivo estos anticuerpos previamente se describió como la formación del complejo inmune. Los anticuerpos es este grupo causan hemólisis intravascular, pero ellos pueden ser difíciles de demostrar serológicamente.<sup>4</sup>

Los anticuerpos del tercer grupo tienen en la reactividad serológica independiente de la droga, a pesar del hecho que la droga fue la que originalmente indujo la respuesta inmune. serológicamente, ellos se comportan como autoanticuerpos.

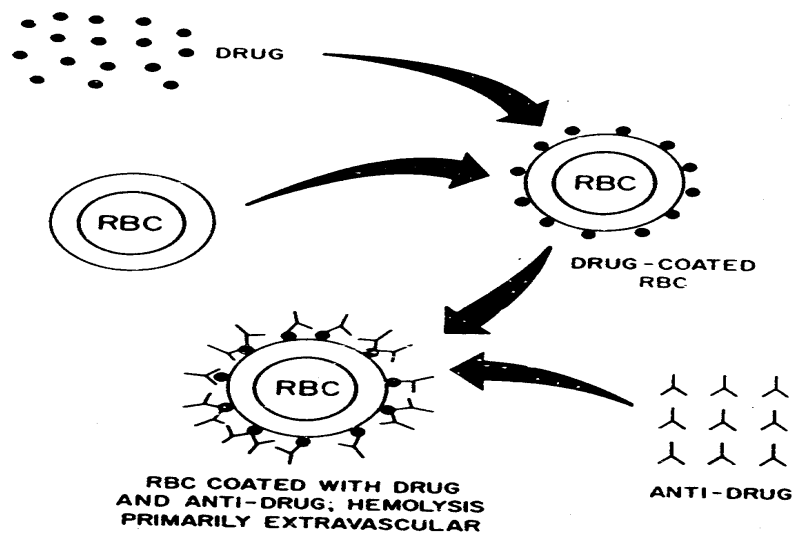
Algunas drogas son asociadas con DAT positivo debido a los mecanismos no inmunes. Estas drogas, especialmente cefalosporinas de la primera generación, alteran la membrana de los glóbulos rojos en cierto modo eso induce la adsorción no específica de proteínas, incluyendo a las inmunoglobulinas.<sup>10</sup>

### **3.13.2. ANTICUERPOS REACTIVOS CON CELULAS DEPENDIENTES DE DROGAS-DROGAS ADHERENTES: TIPOS DE ANTICUERPOS DE PENICILINA**

Las drogas una afinidad alta pueden inducir aparentemente una respuesta inmune a la droga. El grado alto de asociación con los componentes celulares puede causar que la droga actúe como un verdadero hapteno. Estas drogas con una afinidad muy alta pueden ser más inmunogénicas que las drogas que se unen a los componentes de la membrana celular con una afinidad baja. Porque los anticuerpos se dirigen predominantemente a la droga (hapteno) misma, ellos pueden esperar ser inhibidos por una forma pura de la droga, (inhibición del hapteno), y se puede requerir que la droga se una a un sistema de detección de matriz sólida para detección in-vitro.

Tales drogas han sido previamente clasificadas como reaccionantes al mecanismo de adsorción de droga. (Ver figura 2). Las muestras hemolíticas de anti-penicilina no siempre son inhibidas completamente con penicilina pura.<sup>1</sup>

**Figura 2.**



*El mecanismo de la adsorción de la droga. La droga se liga fuertemente a las proteínas de la membrana de los glóbulos rojos. Si un paciente desarrolla un anticuerpo anti-droga potente, este reaccionará con la célula unida a la droga. Los RBC rendirán un resultado positivo para DAT usando reactivos anti-IgG. El*

*complemento normalmente no se activa y la lisis es principalmente extravascular. La penicilina es la droga prototipo.<sup>1</sup>*

#### **3.13.2.1. OBSERVACIONES GENERALES:**

- El DAT es fuertemente positivo debido al recubrimiento de IgG. Raramente la capa del complemento también puede presentarse, pero débilmente.
- Las pruebas para los anticuerpos inesperados del suero no son reactivos a menos que el paciente también tenga aloanticuerpos en los antígenos de los glóbulos rojos.
- El eluato del anticuerpo de los glóbulos rojos reaccionan con los glóbulos rojos cubiertos de drogas pero no con los glóbulos rojos no cubiertos.
- El suero contiene un alto porcentaje de anticuerpos de IgG, por lo menos cuando el blanco o el objetivo es la penicilina.
- La hemolisis ocurre solo en pacientes que reciben dosis muy larga de droga intravenosa.
- La hemolisis se desarrolla gradualmente, pero la vida puede ser amenazada si la etiología no es reconocida y la administración de la droga continua.

#### **3.13.2.2. LOS ANTICUEPROS DE PENICILINA:**

Aproximadamente el 3% de pacientes que reciben dosis grandes de penicilina intravenosa (millones de unidades por día) desarrollarán un DAT positivo. Pero menos del 5% de éstos desarrollarán anemia hemolítica. La hemolisis

intravascular es rara. Un posible mecanismo para DAT positivo se de en la Figura 2.

La penicilina se vuelve covalente unida a los glóbulos rojos en vivo, y si el paciente tienen anticuerpos a penicilina, ellos se unes a los glóbulos rojos unidos a penicilina.

El resultado es que los glóbulos rojos cubiertos de penicilina se cubren con IgG. El complemento usualmente no esta involucrado. Si la destrucción de células ocurre, toma lugar la extravascularidad, probablemente en alguna vía que los glóbulos rojos cubiertos con aloanticuerpos IgG son destruidos.<sup>1</sup>

Las drogas como la penicilina tienen varios grupos hapténicos, donde el más importante es el grupo Benzil-Penicilol (BPO). Con las técnicas suficientemente sensibles, el suero humano adulto, muestra el contenido de anticuerpos de BPO.

Estos normalmente son IgM; sin embargo, algún suero contiene un componente de IgG. El predominio alto de anticuerpos de penicilina en la población normal refleja la exposición extendida probablemente a esta droga. La circulación de anticuerpos de IgM e IgG a la penicilina no están envueltos en reacciones alérgicas a la droga, lo cual es debido a los anticuerpos de IgE.<sup>10</sup>

### **3.13.2.3. CEFALOSPORINAS:**

Drogas cefalosporinas, las cuales se relacionan a penicilina pueden comportarse de una manera similar. Las drogas se ligan a los glóbulos rojos, las cuales interactúan con el anticuerpo específico de cefalosporina. Anti-cefalosporinas pueden cruzar y reaccionar con los glóbulos rojos tratados con penicilina, pero las células preparadas con cefalosporina específico puede ser necesario demostrar la reactividad.

Las cefalosporinas son generalmente clasificados por generaciones, basado en su efectividad contra los organismos gram-negativos (tabla 1).

Aproximadamente 4% de los pacientes que reciben primera y segunda generación de cefalosporinas desarrollan un DAT positivo, aunque algunas series han informado un predominio más alto, posiblemente debido a las dosificaciones de droga o a los reactivos diferentes de antiglobulina usados. La mayoría de los resultados de DAT positivo, sobre todo aquellos vistos en primera generación reflejan adsorción no inmunológica de proteína, un mecanismo no asociado con la supervivencia reducida de los glóbulos rojos: ha habido informes ocasionales de destrucción de los glóbulos rojos que es el resultado de la terapia con cefalosporinas de primera y segundo generación, probablemente siendo el resultado de los efectos de anticuerpos específicos de Anti-cefalosporinas. Más aún la supervivencia reducida de los glóbulos rojos ha sido asociada con la segunda generación de cefalosporinas, y en algunos casos a mecanismos de anticuerpos independientes de droga pueden ser también involucrados. El predominio y severidad de destrucción inmune de glóbulos rojos inducida por cefalosporinas parecen ser aumentadas.<sup>1</sup>

**Tabla 1. Algunas Cefalosporinas.**

<b>Nombre Genérico</b>	<b>Nombre Comercial</b>
<b>PRIMERA GENERACIÓN</b>	
Cefadroxil	Duricef
Cefazolin	Ancef, Kefzol
Cephalexin	Keflex
Cephalothin	Keflin
Cephapirin	Cefadyl
Cephadine	Anspor

## SEGUNDA GENERACIÓN

---

Cefaclor  
Cefamandole  
Cefmetazole  
Cefonicid  
Cefotetan  
Cefoxitin  
Cefprozil  
Cefuroxime  
Cefuroxime axetil

Ceclor  
Mandol  
Zefazone  
Monocid  
Cefotan  
Mefoxin  
Cefzil  
Zinacef, Kefurox  
Ceftin

## INTERMEDIO

---

Cefixime

Suprax

## TERCERA GENERACIÓN

---

Cefoperazone  
Cefotaxime  
Ceftazidime  
  
Ceftizoxime  
Ceftriaxone  
Moxalactam

Cefobid  
Claforan  
Frotas, Ceptaz, Pentacef,  
Tazicef, Tazidime  
Cefizox  
Rocephin  
Moxam

### **3.13.3. OTROS ANTICUERPOS DEPENDIENTES DE DROGA: MECANISMO DEL COMPLEJO INMUNE.**

Este mecanismo es el hallazgo frecuente en la destrucción de los glóbulos rojos mediado inmunológicamente inducido por droga. La quinidina y el fenacetin son los prototipos de drogas. Las siguientes observaciones son características:

- La hemolisis intravascular aguda con Hemoglobinemia y hemoglobinuria es la presentación usual. Fallas renales ocurren aproximadamente en 50% de casos.
- Una vez el anticuerpo se ha formado, episodios hemolíticos pueden repetirse después de la exposición a muy pequeñas cantidades de la droga.
- El anticuerpo puede ser IgG o IgM.
- El complemento es usualmente la única globulina encontrada en los glóbulos rojos.
- La droga debe estar presente in vitro para la demostración del anticuerpo en el suero del paciente.

Muchas drogas se han implicado como causantes de hemolisis inmune, todavía se representan por uno solo o unos exámenes. La hemolisis inmune puede ser atribuida previamente por la formación de complejo inmune droga – anti-droga que interactúan recíprocamente y no específicamente con la célula, resultando en la unión del complemento y la lisis de la célula.<sup>1</sup>

El concepto de neoantígeno propone que estas drogas hacen, de hecho, se asocian con la membrana de la célula, aunque no con una alta afinidad. El neoantígeno, compuesto en parte por droga, en parte de componentes de membrana, constituye el estímulo de la formación del anticuerpo y el blanco de anticuerpos una vez formados.

La distinción entre estos “complejos inmunes” reacciones dependientes de droga y estos mecanismos de adsorción de la droga pueden ser más claros que reales.

La clasificación depende principalmente de la habilidad de la droga de unirse a los glóbulos rojos in vitro para la prueba.<sup>10</sup>

#### **3.13.4. ANTICUERPOS INDEPENDIENTES DE DROGAS: PRODUCCIÓN DE AUTOANTICUERPOS**

Algunas drogas inducen a autoanticuerpos que parecen serológicamente indistinguibles de aquellos de WAIHA (Anemia Hemolítica inmune caliente): los glóbulos rojos son cubiertos con IgG, y el eluato así como el suero reacciona con todas las células de la prueba, en ausencia de la droga.

El anticuerpo in vitro no tiene actividad con la droga, directamente o indirectamente. El mejor estudio de tales casos son aquellos inducidos por  $\alpha$ -metildopa. Una droga estrechamente relacionada la L-dopa, también ha sido implicada como droga severa no relacionada a  $\alpha$ -metildopa, incluyendo drogas anti-inflamatorias no esteroideas (Tabla 2). En algunos casos los anticuerpos dependientes de drogas están también presentes.

La prueba que una droga causa producción de autoanticuerpos es obtenida con dificultad. Evidencia suficiente incluirá: demostración que la producción de autoanticuerpos comenzó después de la administración de la droga; resolución del proceso inmune después del retiro de la droga; y la recurrencia de anemia hemolítica o autoanticuerpos si la droga es readministrada.<sup>1</sup>

**Tabla 2. Algunas Drogas Que pueden inducir Anticuerpos Independientes de Drogas (Autoanticuerpos).**

Alfa- Methyldopa  
Azapropazone

Cianidanol  
Chlorpromazine

Levadopa  
Mafenamic Acid

Carbimazole	Cyclofenil	Nomifensine
Catergen	Diclofenac	Phenacetin
Cefotetan	Fenfluramine	Procainamide
Cefoxitin	Glafenine	Streptomycin
Chaparral	Ibuprofen	Teniposide
Chlorinated Hydrocarbons	Latamoxef	Tolmetin

- **MECANISMOS POSIBLES:** las teorías previas explican la formación de autoanticuerpos:

1. La droga altera un antígeno intrínseco de los glóbulos rojos para que ya no sea reconocido por el sistema inmune.
2. La droga interfiere con la función de la célula-T supresor, permitiendo la sobreproducción de autoanticuerpos por las células B.
3. Los autoanticuerpos hemolíticos es cualitativamente diferente, o reconoce un epítipo diferente, de autoanticuerpo no hemolítico encontrado en la mayoría de los pacientes DAT positivo que reciben  $\alpha$ -metildopa.

Las teorías actuales sugieren que la droga se une a la membrana de la célula y/o sutilmente alteren la estructura de la membrana, formando un neoantígeno. Los autoanticuerpos producidos son aquellos dirigidos contra los componentes de la membrana del neoantígeno. La especificidad del grupo sanguíneo puede ocurrir si los antígenos se presentan en la célula que esta envuelta con el neoantígeno. Con algunas drogas, anticuerpos dependientes de drogas se presentan in adición a los anticuerpos independientes de drogas. Tales anticuerpos dependientes de drogas no son demostrados con  $\alpha$ -metildopa, procainamida o ácido mefanamico, sugiriendo que posiblemente por lo menos pueden ser involucrados dos mecanismos diferentes.

- $\alpha$ -METILDOPA: El prototipo de droga responsable de este mecanismo,  $\alpha$ -metildopa, es ahora raramente prescrita, como droga antihipertensa efectiva

con menos efectos es disponible. Los datos clínicos y de laboratorio asociados con  $\alpha$ -metildopa inducen a autoanticuerpos.

1. Aproximadamente el 15% de los pacientes que reciben  $\alpha$ -metildopa desarrollan un DAT positivo. Solo 0.5-1.0% de pacientes que toman  $\alpha$ -metildopa desarrollan anemia hemolítica.
2. El DAT viene a ser positivo solo después de 3-6 meses de la terapia con  $\alpha$ -metildopa.
3. Los glóbulos rojos son usualmente cubiertos solo con IgG; la capa del complemento débil se ha reportado ocasionalmente.
4. El desarrollo de un DAT positivo es la dosis dependiente; aproximadamente 36% de los que paciente toman 3g de la droga periódicamente, desarrollan DAT positivo, comparado con 11% de pacientes que reciben 1g por día.
5. Los anticuerpos en el suero y en los glóbulos rojos son indistinguibles de aquellos encontrados en WAIHA.
6. La fuerza del DAT positivo se pone progresivamente más débil una vez la terapia de  $\alpha$ -metildopa es discontinuada. Esto puede tomar de 1 mes a 2 años para que el DAT vuelva, pero en pacientes con hemolisis clínica, los valores hematológicos mejoran usualmente dentro de 1 mes o después de que la terapia de la droga es discontinuada.

### **3.13.5. ADSORCIÓN DE PROTEINAS NO-INMUNOLÓGICAS.**

El DAT positivo asociado con algunas drogas es debido a un mecanismo de producción de anticuerpos independientes. La anemia hemolítica asociada con este mecanismo ocurre raramente.

Las cefalosporinas (cefalosporinas primariamente) son las drogas que están originalmente asociadas. Los glóbulos rojos cubiertos con cefalotin (keflin) e incubados con plasma normal pueden adsorber albúmina, IgA, IgG, IgM y globulinas  $\beta$  y  $\alpha$  de una manera no inmunológica. Si esto ocurre, un DAT positivo puede verse con reactivo antihumano a muchas proteínas séricas, no solo anti-IgG o anti-C3.

El cefalotin puede unirse firmemente, in vitro, a los glóbulos rojos a pH ácido por un mecanismo diferente que otros antibióticos  $\beta$ -lactámicos.

Además de este mecanismo de adsorción de proteínas no inmunes, las cefalosporinas pueden también inducir un DAT positivo por el mecanismo de adsorción de la droga descrito para la penicilina por el mecanismo del complejo inmune, e incluso por la producción de anticuerpos.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

Este estudio consta de un proceso de evaluación de autocontroles positivos en pacientes con diversas neoplasias. Se asumió los errores que surgieron en la realización del trabajo, obteniendo de este modo las conclusiones preliminares que servirán de soporte para futuras investigaciones.

### **4.1. MODELO DE ESTUDIO**

En la evaluación de autocontroles positivos se realizó a partir de muestras de pacientes con diagnóstico de cualquier neoplásia, se diseñó un modelo experimental en el cual se les hizo: Hemoclasificación, Rastreo de Anticuerpos y Coombs Directo. Una

vez hallados autocontroles positivos se procedió a hacer Técnicas de Elución y luego se identificó los anticuerpos. (ver Cuadro 4).

Del total de pacientes (220) se obtuvieron 19 pacientes con autocontrol positivo.

**Cuadro 4. Diseño Experimental.**

	<b>CD</b>	<b>RAI</b>	<b>AUTOCONTROL</b>	<b>TÉCNICAS</b>
Pacientes con cáncer	-	-	-	NINGUNA
	+	-	-	Coombs Fraccionado, Elución
	+	+	-	Coombs Fraccionado, Elución e Identificación de Ac.
Toma de muestra	+	+	+	Coombs Fraccionado, Elución e identificación de Ac
	-	+	+	Coombs Fraccionado, Elución e identificación de Ac
Hemoclasificación	-	-	+	Elución e identificación de Ac
	-	+	-	Identificación de Ac
	+	-	+	Coombs Fraccionado, Elución e identificación de Ac
	-	-	-	Identificación de Ac

Negativo (-)	Coombs Directo (CD)	Anticuerpos (AC)
Positivo (+)	Rastreo de Anticuerpos Irregulares (RAI)	

#### **4.2 TIPO DE ESTUDIO.**

Teniendo en cuenta que el objetivo del estudio esta orientado hacia la evaluación de autocontroles positivos en pacientes con cáncer, se realizó un estudio tipo exploratorio que se lleva a cabo en el segundo semestre del 2001.

#### **4.3 TIPO DE MUESTREO.**

El universo de estudio fueron todos los casos de pacientes con cáncer a transfundir que se atendieron en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología en el período establecido entre Agosto y Octubre del año 2001, los cuales deberían cumplir los criterios de inclusión propuestos en el estudio. La muestra utilizada estaba disponible.

#### **4.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.**

- Diagnostico: todos los pacientes a transfundir con diagnóstico de tipo oncológico.
- Pacientes que presenten Coombs Directo positivo y Autocontrol Positivo.

#### **4.5 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.**

- Ser donante o no tener patología oncológica de base.

- No se excluye ningún otro criterio ya que es un estudio en el cual el porcentaje esperado es muy bajo o hay muy pocos casos.

La selección se realizó por conveniencia. Se tuvieron en cuenta los criterios de inclusión y exclusión para asegurar que se cumplieran los requisitos.

#### **4.5 MUESTRA POBLACIONAL.**

En este estudio no tomamos la muestra, ni la elegimos como se dijo anteriormente se tomaron los casos de pacientes con autocontrol positivo que tuvieran cualquier tipo de Neoplasia.

En el periodo entre agosto-octubre del 2001 el total de pacientes atendidos con Cáncer en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología fue de 220.

#### **4.6 VARIABLES DE ESTUDIO.**

Dados los objetivos la variable estaría constituida por: Tipo de Droga, Tiempo Tomando la Droga, Tiempo de la Enfermedad, Tipo de Cáncer y Tipo de Anticuerpo.

#### **4.8. DETERMINACIÓN DE GRUPOS ABO/D (Rho) CON PRUEBA INVERSA.**

ID-tarjetas

ABO/Rh +Inversa combinados                      A B      D      Ctl      A1      B

ID-diluyente

ID-diluyente 2 (LISS)

## HEMATIES-TEST

ID-Diacell ABO-A1y B

### Características de las muestras

Para prueba directa: sangre con o sin anticoagulante, sangre total o concentrado de hematíes (sedimento).

Para prueba inversa: suero o plasma.

### Procedimiento

- Escribir el nombre o número de la muestra en la tarjeta.
- Pipetear 50 ul de los hematíes-Test A1 y B en los respectivos microtubos para prueba inversa.
- Pipetear 50 ul de suero o plasma de la muestra para prueba inversa.
- En el tubo de suspensiones agregar 1000 ul de LISS y 10 ul de sangre total de la muestra.
- Homogenizar y Pipetear 50 ul en los microtubos A-B-D-Ctl.
- Centrifugar y leer.

El microtubo Ctl (control) debe ser siempre negativo. Si se presentan reacciones positivas significa probable presencia de auto-anticuepos. Las pruebas directa e inversa deben ser concordantes.

#### **4.9. RASTREO DE ANTICUERPOS IRREGULARES (RAI).**

##### Hematíes-test

ID-Diacell I-II

##### Características de las Muestras

Suero o plasma.

##### Procedimiento

- Escribir los nombres o números de las muestras en las tarjetas.
- Homogenizar y Pipetear 50 ul de los Hematíes-test en los microtubos I-II.
- Pipetear 25 ul de suero o plasma en los microtubos I-II.
- Incubar 10 minutos a 37°C.
- Centrifugar y leer.

#### **4.10. PRUEBA DE COOMBS DIRECTO.**

La prueba de gel es una alternativa para la demostración de hemaglutinación in vivo de los glóbulos rojos sensibilizados con globulinas.

##### ID-diluyente

ID-Diluyente 2 (LISS): para la suspensión de hematíes y autocontrol.

### Características de las Muestras

Glóbulos rojos con LISS. 1000 ul de LISS + 10 ul de Sangre total de la muestra.

### Procedimiento

- Escribir los nombres o números de las muestras en las tarjetas.
- Pipetear 50 ul de la suspensión de hematíes (con LISS), en el microtubo correspondiente.
- Agregar al autocontrol 50 ul de la suspensión y 25 ul de suero o plasma.
- Centrifugar y leer.

## **4.11. IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES.**

### ID-Tarjetas

LISS/COOMBS

### Hematíes-Test

ID-Diapanel: para la prueba de coombs indirecto.

### Características de las Muestras

Suero o plasma.

#### Procedimiento

- Escribir los nombres o números de las muestras en las tarjetas.
- Homogenizar y Pipetear 5<sup>o</sup> ul de hematíes (ID-Diapanel) en los microtubos (1-6) (7-11).
- Pipetear 25 ul de suero o plasma en los microtubos (1-6) (7-11).
- Incubar 10 minutos a 37°C.
- Centrifugar y leer.

#### **4.12. MÉTODOS DE ELUCIÓN**

El objetivo de toda técnica de elución es el de interferir con las fuerzas no covalentes que soportan el complejo Antígeno-Anticuerpo, justos en la superficie de los glóbulos rojos.

Las membranas de la célula puede ser físicamente rota por calor, ultrasonido, congelamiento, descongelamiento, detergentes o solventes orgánicos; o las fuerzas de complejo Antígeno-Anticuerpo.

##### **4.12.1. *ELUCIÓN CON CLOROFORMO***

La elución de cloroformo es recomendada para la investigación de DAT positivo asociado con (IgG) auto o aloanticuerpos. En conjunción con técnicas de adsorción, se puede usar mezclas de separación de anticuerpos (IgG) contra antígenos de los glóbulos rojos.

#### **4.12.1.1. REACTIVOS:**

- Albúmina bovina al 6%, preparada por dilución de albúmina al 20% con solución salina.
- Glóbulos rojos con DAT positivo, lavados seis veces con solución salina.

#### **4.12.1.2. PROCEDIMIENTO:**

- preparar una suspensión al 50% de glóbulos rojos bien lavados en salina o en LISS. Se congela el anticuerpo del eluato, entonces se usa albúmina bovina al 6% para incrementar la estabilidad. (1mL de glóbulos rojos+1mL solución salina +1mL de albúmina al 6%).
- Se adiciona un volumen equivalente de cloroformo. (1mL).
- Agitar el tubo vigorosamente por 10 segundos. Se mezcló por inversión por un minuto adicional.
- Se remueve el tapón del tubo y se coloca en baño maria a 56°C por 5 minutos, vigorosamente se mezcla el contenido del tubo con un aplicador durante este tiempo.
- Se centrifuga a 1000 xg por 5 minutos.
- Se transfiere el eluato dentro de un tubo limpio.
- Al eluato se le realizan las pruebas de identificación de anticuerpos.

#### **4.12.1.3. NOTA:**

El uso de LISS como diluyente y LISS como reactivo para la suspensión de glóbulos rojos en el sistema de detección puede incrementar la reactividad del anticuerpo eluido.

#### **4.12.2. ELUCIÓN DE GLICINA-HCL/EDTA**

##### **4.12.2.1. REACTIVOS:**

- Disodio de EDTA (10%): 10 gramos de  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y 100 mL de agua destilada.
- Glicina-HCL (0.1 M a pH 1.5): 3.754 g de glicina, 2.922 g de NaCl, en 500 mL de agua destilada; se ajusta el pH a 1.5 con 12 N HCL; se almacena a 4°C.
- TRIS base (1M): 12.1 g de TRIZMA base y 100 mL de Agua destilada.
- Glóbulos rojos con DAT positivo.

##### **5.12.2.2. PROCEDIMIENTO:**

- Se mezcla 4 mL de Glicina-HCL y 1 mL de EDTA en un tubo.
- Inmediatamente se adiciona 1 mL de glóbulos rojos lavados y se mezcla muy bien.
- Se incuba a temperatura ambiente por 2 minutos.
- Se centrifuga el tubo de 900-1000 xg por 3 minutos.
- Se transfiere el sobrenadante del eluato dentro de un tubo limpio y se ajusta el pH a 7.5 con 1M de TRIS base.
- Se mezcla y se centrifugó de 900-1000 xg por 3 minutos.
- Se transfiere el sobrenadante del eluato a un tubo limpio.
- Al eluato se le hizo la prueba de identificación de anticuerpos.

#### **4.12.2.3. NOTAS:**

- La prueba con Glicina-HCL/EDTA denatura los antígenos del sistema Kell.
- Los glóbulos rojos modificados con glicina pueden ser tratados con una proteasa y usados en estudios de adsorción de autocontroles.

#### **4.12.3 *ELUCIÓN DE ACIDO PARA AUTOANTICUERPOS. (DiaCidel).***

El objetivo del DAT, es determinar si los glóbulos rojos están cubiertos con autoanticuerpos. Donde un DAT positivo es encontrado, es necesario hacer pruebas posteriores:

- Diferenciación de clases de anticuerpo IgG, IgM, IgA y componentes de complemento C3d y C3c.
- Identificación de autoanticuerpo.

La diferenciación de clases de autoanticuerpo es llevado a cabo por el DAT con reactivos monoespecificos de AHG anti IgG-IgM-IgA-C3d y C3c.

Para la identificación, el anticuerpo es separado de los glóbulos rojos por técnicas de elución tales como la elución de ácido lo cual es considerado más adecuado para la elución de anticuerpos reactivos calientes.

DiaCidel consiste de reactivos listos para usar, que ofrecen procedimiento de trabajo fácil para la elución de los más comunes autoanticuerpos.

#### **4.12.3.1. REACTIVOS:**

Para diagnostico in vitro:

- DiaCidel, solución de lavado. (Concentrado), 1 vial de 30 mL, contiene Buffer glicina-NaCl con azida de sodio como preservativo (1,0%). Almacenar a 2-8°C.
- Preparación de la solución de trabajo: diluir el concentrado de solución de lavado 1:10 en agua destilada (1 parte del concentrado + 9 partes de agua). Estabilidad de la solución de trabajo: seis meses a temperatura de 2-8°C.
- DiaCidel, solución de elución. 1 vial de 10 mL, contiene un Buffer de glicina de pH bajo con indicador de color, listo para usar. Almacenar a temperatura 2-8°C.
- DiaCidel, solución buffer, un vial de 10 mL, contiene Tris con albúmina bovina (1,2%) y azida de sodio como preservativo, listo para usar.

#### **4.12.3.2. PROCEDIMIENTO DE ELUCIÓN:**

- Se Lavan los glóbulos rojos los cuales hayan dado DAT positivo una vez con solución salina isotónica. 1 mL de glóbulos rojos es requerido.
- Se Lavan 1mL de glóbulos rojos 4 veces con DiaCidel la solución de lavado.
- Se Decanta completamente después del último lavado y se mantiene parte del sobrenadante para ensayar para la presencia de anticuerpos irregulares.
- Se añade al ml de los glóbulos rojos lavados un mL de DiaCidel solución de elución. Se mezcla bien.
- Se centrifuga inmediatamente 1 minuto a 900 xg.
- Se transfiere el eluato a un tubo limpio.

- Se añaden 5 gotas de solución buffer al eluato y se mezcla bien. Se debe observar la formación de un color azul, indicando que un pH 6,5-7,5 es alcanzado. Si el color azul no es obtenido, se añade más buffer.
- Se centrifuga el eluato por 1 minuto a 900 xg para remover completamente cualquier célula residual.
- El eluato esta ahora listo para ensayar.
- Se lleva a cabo los procedimientos normales usados para la detección e identificación de anticuerpos con el eluato; se usa la solución sobrenadante guardada del último lavado en paralelo como un control negativo.

#### **4.13. RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN.**

Se incluyeron los pacientes con Neoplasias a los que se les encontró autocontrol positivo los cuales se atendieron en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología y que no cumplieron con los criterios de exclusión anteriormente expuestos. Los criterios de evaluación en el estudio fueron: Hemoclasificación, Coombs Directo, Rastreo de Anticuerpos Irregulares, Técnica de Elución (Cloroformo y Glicina), e Identificación de Anticuerpos. Análisis de la historia clínica para ver los antecedentes transfusionales, medicamentos actuales y tipo de patología oncológica.

#### **4.14. ANÁLISIS DE DATOS E INFORMACIÓN.**

##### **4.14.1. RECOLECCIÓN DE DATOS ESTADÍSTICOS:**

La información de los pacientes se obtuvo a través de una fuente secundaria como; la Historia Clínica.

#### **4.14.2. ANALISIS Y REPRESENTACIÓN DE RESULTADOS:**

Con el fin de analizar los resultados obtenidos y determinar el porcentaje de casos de pacientes con cáncer que tengan autocontrol positivo, se presentan los resultados en tablas y gráficos que permiten apreciar los comportamientos de los Sistemas ABO y RH; del RAI; del Coombs Directo y del Autocontrol, presencia de anticuerpos antieritrocitarios, las características de los pacientes con cáncer y las drogas de tratamiento antineoplásico.

#### **4.15. ANALISIS DE LAS GRAFICAS**

Del total de 220 pacientes atendidos en el Banco de Sangre Del Instituto Nacional de Cancerología con patología oncológica, se encontró 19 pacientes con Autocontrol positivo; en el periodo comprendido entre Agosto-Octubre del 2001.

Las gráficas del comportamiento del Rastreo de Anticuerpo permite establecer que de 19 muestras obtenidas solo 3 casos dieron un resultado positivo. Con lo cual se analizó que los 16 casos con un resultado negativo tenían pegados en la membrana del glóbulo rojo el anticuerpo.

Para el comportamiento del Autocontrol Directo las 220 muestras 19 dieron un resultado positivo. Indicando que el glóbulo rojo tenía en su membrana un anticuerpo pegado.

En el comportamiento del Autocontrol de las 220 muestras 19 dieron un resultado positivo; lo que quiere decir que los anticuerpos encontrados en las pruebas anteriores eran autoanticuerpos adquiridos por estos pacientes ya sea por el

tratamiento, transfusiones o por el mismo tumor; y en el caso de las mujeres por previos embarazos.

**Tabla 3. Registro de pacientes Instituto nacional de cancerología**

ITEM	HISTORIA CLINICA	NOMBRES	APELLIDOS	EDAD	DIAGNOSTICO	TRATAMIENTO QUIMIOTERAPIA
1	328023	Ilda	Gutiérrez	49	CA.Seno II B Derecho	Cirugía No drogas
2	329061	Fany	Hernandez	47	Síndrome Melodisplasico	Vitamina B12 Ácido fólico, Heparina, Prednisona, Albendazol, Metronidazol, Omeprazol
3	327511	Carolina	Valencia	42	CA Seno Maxilar Derecho	Levotiroxina, Tramadol Ranitidina, Cefalozina Metroclopramida Carbonato de calcio Dipirona, Gluconato de calcio, , Calcitrol
4	328789	Hernando	Gómez	51	Linfoma de No Hodking	Heparina, Tramadol, Cefaperazone, Amikasina, Metoclopramida, Bisacodilo, Vicristina, Albendazol, Metronidazol, Ciprofloxacina, Adrenalina, Fluconazol, Vancomicina, Ceftazidine.
5	324544	María	López	86	CA Seno III B	Acetaminofen, Tropise, Tamuxifen, Decadron, Ciclofosfato, Metroclopramida, Dipirona, Morfina, Heparina, Ciprofloxacina Clindamicina, Tramal
6	328077	José	Rosas	35	CA Periamputar	Acetaminofen, Ranitidina, Cefozalina, Dipirona,

						Morfina, Enoxaparina, Metroclopramina
7	328792	Armando	Moncada	25	LMA Promielocita	Vancomicina, Fluconazol, Ceftacidine, Heparina, Ranitidina, Captopril
8	328618	Oscar	Ramírez	14	Linfoma Hodking	Bacitracina, Cefipine, Aciclovir, Acetaminofen, Viconasol, Vincristina,
9	326601	Margarita	Castillo	58	CA Ovario	Dicloxaxilina, Insulina, Metronidasol, Dipirona, Enoxaparina, Gentamicina, Acetaminofen, Ibuprofeno, Ranitidina, Isordil, Tramal, Carbamezipina, Morfina, Eritromicina, Dopamina,
10	305322	Alicia	Cáceres	86	CA Pulmón Izquierdo grado III	Dicloxaxina, Insulina Metronidazol, Dipirona Enoxaparina, Gentamicina, Acetaminofen, ASA Ibuprofeno, Dopamina Morfina, Carbamazepina
11	328067	Carlos	Quintero	32	Tumor Retroperitoneal compatible con sarcoma	Morfina, Metroclopramida, Tramadol, Cefalotina, Enoxaparina, Ranitidina, Alprazocam
12	327944	Emma	Santamaria	72	Leucemia Mieloide Aguda	Vancomicina, Anfotericina B, Ceftacidime, Ranitidina, Heparina, Metroclopramida, Gluconato de calcio, Enoxaparina
13	322889	María	Jiménez	67	CA. Seno	Enoparina, Ranitidina, Euglucon, Tamoxifen, Enoxaparina, Acetaminofen, Werfarina,
14	327577	Cleotilde	Ruiz	45	Leucemia Linfoide Aguda	Heparina, Tramal, Cefazolina, Metrotrexate, Mercaptopurina, Metroclopramida, Dopamina, Fluconazol,

						Oxacilina.
15	325204	Luz	Hernández	18	Leucemia Linfoide Aguda	Heparina, Tramal, Cefazolina, Sucralfate, Metrotrexate, Mercaptopurina, Metroclopramida, Dopamina, Fluconazol, Vancomicina, Oxacilina
16	325673	Mariela	Buenahora	34	CA. Gástrico grado IV	Metoclopromida Salbutanol, Tramal Ampicilina Sulbatona Ranitidina
17	306167	Ángel María	Cárdenas	51	Leucemia Mieloide Crónica	Hidroxina, Busulfan, Vitamina B12, Acido Fólico, Aracitin
18	309775	Gildardo	Bermúdez	42	Leucemia Mieloide Crónica	Prednisona, Acido folico,
19	325648	Omaira	Carpeta	29	Leucemia Mieloide Crónica	Aracitin, Bisacodilo, Tramal, Amikacina, Cefipime, Heparina, Vancomicina, Aciclovir, Adrenalina, Dexametazona

**Tabla 4 . Pacientes Transfundidos**

Nombre	SI	NO
Ilda Gutiérrez		X
Fany Hernández	X	
Carolina Valencia		X
Hernando Gómez	X	
María López	X	
José Rosas		X
Armando Moncada	X	
Oscar Ramírez	X	
Margarita Castillo		X
Alicia Cáceres		X
Carlos Quintero		X
Emma Santamaría	X	
Maria Jiménez		X
Cleotilde Ruiz	X	
Luz Hernández	X	
Mariela Buenahora	X	
Ángel María Cárdenas	X	
Giraldo Bermúdez	X	
Omaira Carpeta		X

**Tabla 5. Resultado de Pruebas Realizadas**

<b>Item</b>	<b>Hemoclasificación</b>	<b>Rastreo de Anticuerpos Irregulares</b>	<b>Coombs Directo</b>	<b>Autocontrol</b>
1	O+	-	+	+
2	O+	+	++	+
3	A+	-	++	+
4	O+	-	+	+
5	O+	-	++	+
6	O+	-	+	+
7	A+	-	+	+
8	O+	-	+++	+
9	A+	-	++	+
10	O+	-	++	+
11	O+	+	+	+
12	A+	-	+	+
13	A+	-	++	+
14	B+	-	+	+
15	O-	-	++	++
16	O+	+	+	+
17	A+	-	+	+
18	A+	-	+	+
19	A+	-	+	+

**Tabla 6. Técnicas de Elución e Identificación de Anticuerpos**

Item	RAI (Elución Cloroformo)	RAI (Elución Glicina)	Identificación de Anticuerpos Irregulares (E. Cloroformo)	Identificación de Anticuerpos Irregulares (E. Glicina)
1	-	+	NO SE HIZO	Js <sup>a</sup> b (Kell)
2	+	-	K (Kell)	Negativo
3	NO SE HIZO	+	NO SE HIZO	Jk <sup>a</sup> (Kidd)
4	+	+	Le <sup>a</sup> (Lewis)	Le <sup>a</sup> (Lewis)
5	+	+	Js <sup>a</sup> (Kell)	Js <sup>a</sup> (Kell)
6	+	+	Js <sup>a</sup> b (Kell)	Js <sup>a</sup> b (Kell)
7	+	+	Js <sup>a</sup> b (Kell)	Js <sup>a</sup> b (Kell)
8	+	+	Fy <sup>a</sup> (Duffy)	Fy <sup>a</sup> (Duffy)
9	+	+	M (MNS)	M (MNS)
10	+	-	K (Kell)	Negativo
11	+	+	M (MNS)	M (MNS)
12	+	-	K (Kell)	Negativo
13	-	+	NO SE HIZO	Js <sup>a</sup> b (Kell)
14	+	+	Js <sup>a</sup> b (Kell)	Js <sup>a</sup> b (Kell)
15	+	+	Js <sup>a</sup> b (Kell)	Js <sup>a</sup> b (Kell)
16	+	-	K(Kell)	Negativo
17	+	-	K(Kell)	Negativo
18	+	+	Js <sup>a</sup> (Kell)	Js <sup>a</sup> (Kell)
19	+	-	K(Kell)	Negativo

## 5. RESULTADOS

### 5.1. INFORME DE LOS RESULTADOS.

En la tabla No. 11 se observa que la mayoría de los pacientes con autocontrol positivo pertenecen al sexo femenino con un 63%, comparado con un 36% del sexo masculino; la edad promedio en el grupo de estudio fue 46,4%, número de pacientes con transfusiones promedio 57,8% y para todo el grupo de estudio se encontró un 8,6% de sensibilización por antígenos eritrocitarios.

La tabla No. 12 muestra el número de casos reportados como positivos en el Rastreo de Anticuerpos Irregulares (eluato) efectuado a cada uno de los pacientes así como su respectiva identificación.

De los que presentaron Rastreo de Anticuerpos Irregulares positivo (después de eluato), se encontró un 31,5% para anti -K y Js<sup>b</sup>, 10,5% para el anti Js<sup>a</sup> y M, 5,2% para anti-Fy<sup>a</sup>, Jk<sup>a</sup> y Le<sup>a</sup>.

Para la tabla 13 se encontró que las drogas más suministradas como tratamiento a los pacientes con cáncer son: Metoclopramida con un 22%; le sigue con un 15,8 % Tramal, 12,6% Ranitidina y Heparina; 9,5 % de Enoxaparina, Cefazolina un 7,9% Vancomicina, dipirona, morfina y Acetaminofen; y 6,3% Prednisona, Fluconazol, Bisacodilo.

La tabla No. 14 reporta el tiempo que lleva el paciente tomando la droga. Se observa que el 68,4% de los casos lleva tomando la droga menos de 6 meses, el

5,2% de 6-12 meses y 21% mas de 12 meses. En el periodo comprendido entre agosto- octubre del 2001.

La tabla No. 15 agrupa las neoplasias de acuerdo a sistemas, y edad promedio. Así la mayor parte de los pacientes tratados 52,6% del total de la población de estudio reporta diversas neoplasias relacionadas con Leucemias y Linfomas, siguiendo el reporte de casos con un 15,7 % Neoplasias que implican el Cáncer de Mama. En el periodo comprendido entre agosto- octubre del 2001.

La tabla No. 16 reporta el tiempo que lleva el paciente con el cáncer. Se observa que el 52,6% lleva con el cáncer menos de 6 meses, el 15,7% de 6-12 meses y 31,5 % mas de 12 meses. En el periodo comprendido entre agosto- octubre del 2001.

La tabla No. 17 muestra que el 57,8% de los pacientes fueron transfundidos y el 42,1 % no se les realizó transfusión alguna; las transfusiones se realizaron en los 4 últimos meses.

**Tabla 11. Características de Grupo de Estudio**

<b>Características de los pacientes con cáncer</b>			
EDAD PROMEDIO(RANGO)			46(14-86)
SEXO			
	FEMENINO	12	63,00%
	MASCULINO	7	36,00%
EVOLUCIÓN CLINICA			
	TRANSFUSIONES	11	57,80%
	NO TRANSFUSIONES	8	42,10%
ANTICUERPOS ERITROCITARIOS			
	SI	19	8,60%
	NO	201	91,30%

## 6.DISCUSIÓN

Se sabe que diversos agentes químicos y medicamentos pueden hemolizar a los eritrocitos, dependiendo en muchos casos de la dosis. Además de causar hemólisis, los fármacos y sustancias químicas pueden producir también metahemoglobinemia y cianosis o, en algunos individuos, aplasia de la médula ósea.

La hemólisis de los eritrocitos puede deberse a la presencia de sustancias antagonistas en el entorno de la célula. Este tipo de hemólisis lo causa un daño a la membrana eritrocitaria o una desnaturalización de la molécula de hemoglobina.

Anticuerpos que se encontraron mas frecuentemente en muestras de pacientes con autocontrol positivo fueron K y Js<sup>b</sup> con el 31,5% de todas las muestras analizadas.

Algunos anticuerpos contra los glóbulos rojos tienen una mayor importancia clínica mientras ellos puedan causar un descenso en la sobrevivencia de los glóbulos rojos como de la transfusión, enfermedad hemolítica del recién nacido o como resultado de Anemia Hemolítica Autoinmune.

Se desconoce el mecanismo de formación de anticuerpos en Anemias Hemolíticas Autoinmunitarias. Se acepta en general que las enfermedades Autoinmunitarias ocurren debido a un defecto en el mecanismo que regula la respuesta inmunitaria. En forma general, las células T supresoras inducen tolerancia a los

antígenos por inhibición de la actividad de las células B productoras de anticuerpos. La pérdida de este efecto en la célula supresora podría conducir a la formación de anticuerpos contra lo propio. No se sabe la razón del defecto, pero como numerosos casos de anemia hemolítica autoinmune se relacionan con infección bacteriana, neoplasia o administración de medicamentos, estos agentes podrían causar la disfunción del sistema inmunológico.

La anemia hemolítica inmunitaria que acompaña a la administración de medicamentos, se debe a una hemólisis inmunológica precipitada por ciertos agentes.

La capacidad inmunogénica de ciertos antígenos de glóbulos rojos, que al sensibilizar a estos pacientes, su correspondiente anticuerpo no puede ser detectado porque algunos presentan fenómenos de dosis. Por este motivo, la prueba cruzada no detecta incompatibilidad a estos grupos.

### **6.1. IDENTIFICACIÓN DE LOS ANTICUERPOS.**

De un total de muestras correspondiente a 220 pacientes con neoplasias se encontró una incidencia del 8,6% con respecto a la presencia de anticuerpos eritrocitarios. 19 pacientes de 220 del total de la población presentaron autoanticuerpos. Se puede afirmar que los resultados encontrados de autocontroles positivos tienen concordancia con los resultados obtenidos en el estudio realizado en el periodo comprendido entre septiembre-noviembre del 2000 en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología.

Con la identificación de los anticuerpos implicados pudo establecerse que un 31,5% presentó el anticuerpo K. El anti-K es generalmente IgG y su producción es estimada por transfusión o embarazo. Pueden, por tanto ser la causa de

reacciones transfusionales y de enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN). Con relación al estudio mencionado anteriormente en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología en el periodo comprendido entre septiembre- Noviembre del 2000 se puede observar que este anticuerpo es el que se presenta con mayor frecuencia.

Los anticuerpos Js<sup>b</sup> y Js<sup>a</sup> (KELL) se presentaron con un 31,5%, y 10% respectivamente. Aunque no producen reacción hemolítica in vitro, in vivo si es muy probable que causen complicaciones clínicas de importancia. En comparación con el estudio anteriormente realizado en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología en el periodo comprendido entre septiembre- Noviembre del 2000 en el periodo comprendido de septiembre-noviembre de 2000 estos anticuerpos no fueron identificados.

El anticuerpo Fy<sup>a</sup> (DUFFY) presentó un 5,2%. La mayor parte de estos anticuerpos son IgG y su importancia radica que pueden activar la secuencia del complemento, puede ser causa de reacciones transfusionales y EHRN. Este anticuerpo es inmunogénico. En relación con el estudio anterior realizado en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología en el periodo comprendido entre septiembre- Noviembre del 2000 en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología en el periodo de septiembre-noviembre de 2000 de este anticuerpo no fue identificado.

El 10,5% de anti-M se encontró en estos pacientes. Generalmente esta constituido por una mezcla de IgM e IgG, no suele causar reacciones transfusionales debido a su bajo rango térmico. No es de gran importancia clínica. En comparación con el estudio anteriormente realizado en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología en el periodo comprendido entre septiembre- Noviembre del 2000 este anticuerpo no fue encontrado.

El anticuerpo JK<sup>a</sup> (KIDD) presente un 5,2%. Este anticuerpo es de la clase IgG, su importancia radica en que es capaz de fijar complemento. Se forman como resultado de la recepción de sangre Kidd positivo, ya sea mediante transfusión o embarazo. En relación con el estudio realizado anteriormente en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología en el periodo comprendido entre septiembre- Noviembre del 2000 en el periodo de septiembre-noviembre de 2000 este anticuerpo no fue identificado.

El anticuerpo Le<sup>a</sup> se encontró en un 5,2% estos anticuerpos pueden aglutinar los hematíes y activar el complemento in vitro, pero in vivo tienen escasa importancia clínica, por dos razones:

- Los antígenos solubles Le<sup>a</sup> y Le<sup>b</sup> presentes en el plasma del donante neutralizan los anticuerpos del receptor.
- Estos antígenos son rápidamente desplazados de los hematíes del donante, los cuales se transforman y adquieren un fenotipo Lewis igual al del receptor.

Con relación al estudio anterior realizado en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología en el periodo comprendido entre septiembre- Noviembre del 2000 se observa que este anticuerpo es el segundo mas frecuente, presentando mayor número de casos en comparación con este estudio.

Los paneles tipificados sirvieron para poder detectar la presencia de autoanticuerpos, creados por pacientes que fueron politransfundidos.

En este estudio se logró identificar los autoanticuerpos presentes en todos los pacientes, por esta razón la causa de la presencia de estos anticuerpos no puede ser por el tratamiento.

Las técnicas de elución utilizadas fueron el cloroformo y la glicina, siendo de mayor importancia el cloroformo para este estudio ya que esta técnica ayuda a identificar todos los anticuerpos del sistema Kell.

## **6.2. NECESIDAD TRANSFUSIONAL Y NEOPLASIA**

La meta de la quimioterapia es alcanzar una toxicidad selectiva contra las células tumorales malignas respetando las células normales del huésped principalmente y tejidos con alto recambio como la médula ósea. Desafortunadamente, esta toxicidad afecta principalmente a las células del sistema hematopoyético y como resultado hay una disminución del número de células producidas, con reducción en sangre periférica del número de eritrocitos, plaquetas y leucocitos, dando como último efecto observada en la mielosupresión.

Como consecuencia de la aplasia medular, se presenta un deficiente número de glóbulos rojos en circulación hasta concentraciones inferiores a las normales, lo que lleva a que se disminuya la supervivencia de los eritrocitos y por consiguiente exista la necesidad de realizar transfusión.

En el Banco de Sangre los anticuerpos son de gran importancia en el caso de pacientes politransfundidos que presentan diferentes neoplasias. La anemia es común en las neoplasias de origen hematológico, puede deberse a la pérdida sanguínea, hemólisis inmune, también puede ser secundaria a grados avanzados de cáncer y efectos de la quimioterapia. Como consecuencia a esto los pacientes se transfunden regularmente cuando el hematocrito llega a valores tan bajos como 27% así se aumenta la posibilidad de crear anticuerpos antieritrocitarios contra los glóbulos rojos del donante, complicando su estado clínico.

Los pacientes que presentan las diferentes neoplasias necesitan a menudo de transfusiones de diferentes componentes sanguíneos. El porcentaje de pacientes

que requieren transfusión sanguínea en algún momento de su evolución varía en función del tumor. Se encontró que los portadores de tumores recibieron un promedio de 3,8 unidades desde su hospitalización hasta el estudio realizado.

### **6.3. NEOPLASIA Y QUIMIOTERAPIA**

En este tipo de pacientes es común el uso de quimioterapia antes de la cirugía, tratamiento locoregional del tumor y coadyudante luego de la cirugía. Con ayuda de la Historia Clínica del paciente, se determinaron las drogas antineoplásicas que estaban siendo administradas para su tratamiento.

## 7. CONCLUSIONES

- Los datos estimados en cuanto a la incidencia de anticuerpos eritrocitarios en pacientes con cáncer muestran una concordancia con los datos obtenidos del estudio realizado en el banco de sangre del Instituto Nacional de Cancerología en el periodo comprendido entre septiembre-noviembre de 2000 donde la incidencia encontrada no supera el 10% del total de individuos analizados.
- Los anticuerpos creados por los pacientes no pueden ser a causa del tratamiento ya que todos los anticuerpos fueron identificados y las drogas antineoplasia al alterar la membrana del glóbulo rojo no permite su identificación.
- En los pacientes politransfundidos esta puede ser la causa de los autoanticuerpos encontrados.
- De los 8 pacientes no transfundidos, 6 corresponden a mujeres, por su edad y el anticuerpo encontrado se puede inferir que sea por embarazo pero la historia clínica esta incompleta respecto a los antecedentes gestacionales. Y en los dos restantes que corresponden a hombres puede deberse al tumor pero seria importante ampliarse para encontrar otras posibles causas.
- La importancia de identificar los autoanticuerpos en pacientes con cáncer es de gran ayuda para brindar una mejor calidad transfusional.

## **8. RECOMENDACIÓN.**

Vale la pena continuar con el trabajo, ya que dentro de los limitantes encontrados 220 pacientes analizados 19 de ellos presentaron autocontrol positivo pudiéndose identificar en todos un anticuerpo.

Se propone abrir nuevas investigaciones con un número mayor de muestras que permita determinar si estos anticuerpos son producidos por el tumor o por el tratamiento.

## BIBLIOGRAFÍA

1. AMERICAN ASSOCIATION OF BLOOD BANKS. Technical Manual. 12<sup>th</sup> Edition. 1996.
2. BEATTLE K. Control of the antigen-antibody ration in antibody detection compatibility test. 1980; 20.
3. BEVERLY W, TIPSUDA J AND BARON W. Ceftizoxime induced hemolysis secondary to combined drug adsorption and immune-complex mechanisms. 2001; 41.
4. BIOCIENTIFICA. Manual de técnicas. Diamed-ID Micro Typing System.
5. CUNMA P.D, CORD R.S, AND JOHSON S.T. Immune hemolytic anemia caused by sensitivity to a metabolite of etodolac a nonsteroidal anti-inflammatory drug. Transfusion 2000;40: 340-347.
6. HAKOMORI,S. Antigen structure and genetic basis of human blood groups A,B and O: changes associated with human cancer. Biochim Biophys acta 1999;1433(1):247-266.
7. HILL B.M, LAESSIG R.M, KOCH D.D, and HASSEMER D.J. Comparison of plastic Vs glass evaluated serum-separator blood drawing tubes for common clinical chemistry determination. Clin Chem 1992;38:640-650.
8. ICHIKAWA,D.,HANDA.,Et al. Human blood group ABO mRNA in human chronic myeloid leukemia cell lines using reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Cancer letter 1998;133(2):191-196.
9. LEGER.,R.M and GARRATY., G. Evaluation of methods for detecting alloautoantibodies underlying warm autoantibodies. Transfusion 1999.
10. MAHL M.A, HIRCSH M and SUGG V. Verification of the drug history given by potential blood donors: results of drug screening of hair and urine analysis. Transfusion 2000;40:1130-1135.

11. MALIORY D. Immunohematology Methods. American red cross national Reference Laboratory 1993; (89-90-91).
12. MATSUMOTO, H., MURAMATSU, H., SHIMOTAKAHARA, T., et al. Correlation of Expression of ABH blood Group Carbohydrate Antigens with Metastatic potential in Human Lung Carcinomas. Cancer 1993; 72(1): 75-81.
13. NARITA, T., et al. Association of expression of blood group related carbohydrate antigens with prognosis in breast cancer. Cancer 1993; 71(10): 3044-3053.
14. NAKAMORI, S., KAMEYAMA, M., IMAOKA, S., et al. Increased expression of sialyl Lewis antigens correlated with poor survival in patients with colon rectal carcinoma: clinicopathological and immunohistochemical study. Cancer Research 1993; 53: 3632-3637.
15. NAKAMORI, S., FURAKAMA, O., HIRATSUKA, M., et al. Expression of carbohydrate antigen sialyl Le<sup>a</sup>: A new functional prognostic factor in gastric cancer. Journal of clinical oncology 1997; 15: 816-825.
16. SALAMA, A., BERGMÖEFER, M. Detection of cell drug (hapten) antibody complex by gel test. Transfusion 1992; (32).
17. SCHONEWILLE, H., HAAK, H. Alloimmunization after blood transfusion in patients with hematologic and oncologic diseases. Transfusion 1999; 39(7): 763-771.
18. SHONEWILLE, H., HAAK, H, L and M. VAN ZIJL. RBC antibody persistence. Transfusion 2000; 40: 1127-1131.
19. TODD, J., SCHOCKET, L., et al. A retrospective review of blood group transfusion in cancer patients with anemia. The Oncologist 1999; 4(4): 318-324.
20. WAN, C.P., FENG, C.S. The plastic tube compared with the glass tube in blood bank test. Pathology 1998; (20).
21. WAKABAYASHI, M., SHIRO, T., SEKI, T., et al. Lewis Y expression in Hepatocellular carcinoma. Cancer 1995; 75(12): 2827-2835.

22. WELSHINGER, M., FINSTAD, C.L., VENTAKRAMAN, E., et al. Expression of A,B and H blood group antigens in epithelial ovarian cancer: relationship to tumor grade and patient survival. *Gynecologic Oncologic* 1996;62: 106-112.
23. YIN, B., FINSTAD, CL., KITAMURA, K., et al. Serologic and immunochemical analysis of lewis Y (Le<sup>y</sup>) blood antigen expression epithelial ovarian cancer. *Internal journal of cancer* 1996;65: 406-412.
24. ZUPANSKA B. Assays to predict the clinical significance of blood antibodies. *Current opinion of hematology* 1998;5(6):412-416.

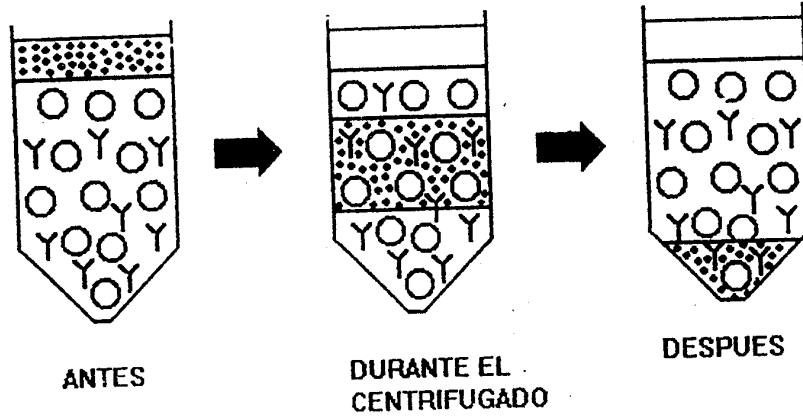
# ANEXOS

# **ANEXO 1**

## REPRESENTACIÓN ESQUEMATICA DE LAS REACCIONES

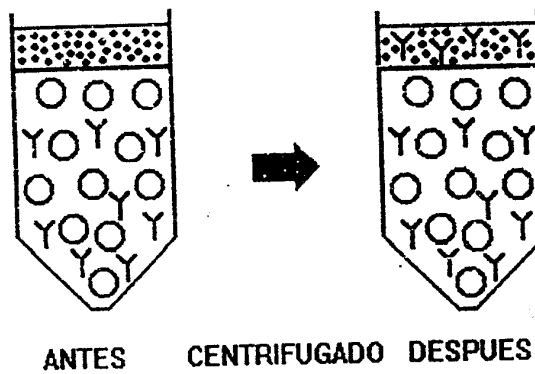
### REACCION NEGATIVA

- PARTICULAS DE GEL
- Y ANTICUERPOS ANTI B
- CELULAS GRUPO A



### REACCION POSITIVA

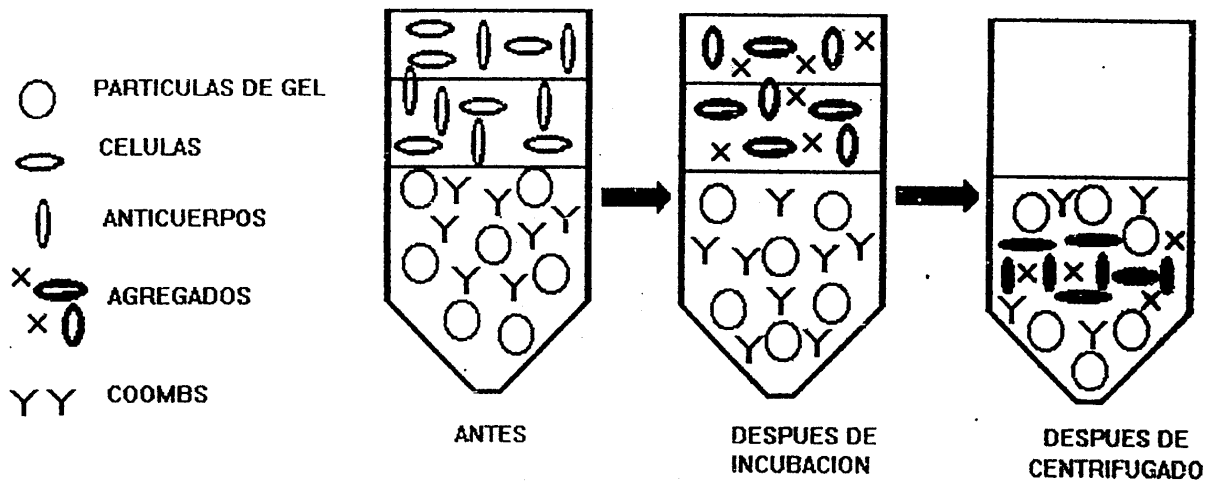
- PARTICULAS DE GEL
- Y ANTICUERPOS ANTI B
- CELULAS GRUPO B
- ⊕ AGREGADOS



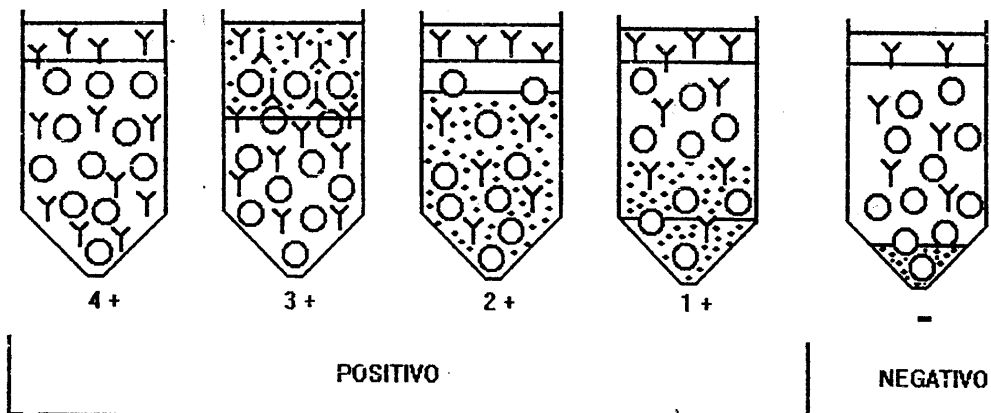
## **ANEXO 2**

# REPRESENTACIÓN ESQUEMATICA DE LAS REACCIONES

## TEST DE COOMBS SIN LAVADOS



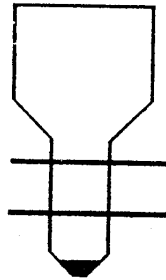
## DIFERENTES PATRONES DE REACCION



## **ANEXO 3**

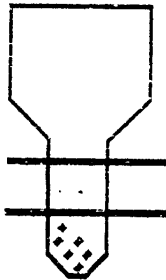
## PATRONES DE LECTURA DE LAS REACCIONES

### REACCIONES NEGATIVAS

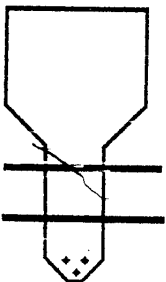


TODAS LAS CELULAS  
ESTAN SEDIMENTADAS  
FORMANDO UN BOTON  
EN EL FONDO.

### REACCIONES DEBILES Y $\pm$

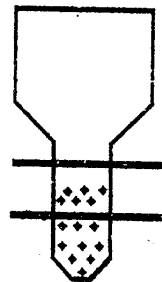


CELULAS PARCIALMENTE  
SEDIMENTADAS,  
PARCIALMENTE DISPERSAS  
EN LA PARTE INFERIOR  
DEL GEL ( 25 %).

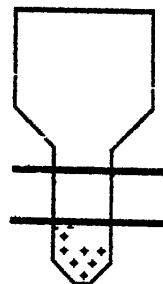


LA MAYOR PARTE DE  
LAS CELULAS ESTAN  
SEDIMENTADAS, UNA  
PEQUEÑA CANTIDAD  
ESTÁ DISPERSA EN EL  
GEL ENCIMA DE LAS  
SEDIMENTADAS.

### REACCIONES 1+



CELULAS  
DISPERSAS EN LA  
PARTE INFERIOR  
DEL GEL ( 75 %).



CELULAS DISPERSAS  
EN LA PARTE INFERIOR  
DEL GEL ( 50 %).

## **ANEXO 4**

## CLÍNICA DE LOS ANTICUERPOS

SISTEMA	CLÍNICAMENTE SIGNIFICATIVO	CLASE AC	REACCION TRANSFUSION
Ac. Del sistema KELL	SI	IgG IgM (raro)	H. Extravascular H. Intravascular
Ac del sistema DUFFY	SI	IgG	H. Extravascular H. Intravascular
Ac del sistema KIDD (JK)	SI	IgG	H. Extravascular H. Intravascular
Ac del sistema I	RARO	IgM	H. Extravascular (No) H. Intravascular (raro)
Ac de sistema M	RARO	IgG IgM	H. Extravascular (rara) H. Intravascular (No)
Ac del sistema N	NO	IgM	H. Extravascular (No) H. Intravascular (No)
Ac del sistema S	ALGUNAS VECES	IgG IgM	H. Extravascular
Ac del sistema s	SI	IgG	H. Extravascular
Ac del sistema LEWIS	RARAS VECES	IgM	H. Extravascular (rara) H. Intravascular (rara)

**AC** (Anticuerpo)

**H. Extravascular** (Hemolisis Extravascular)

**H. Intravascular** (Hemolisis Intravascular)

---