

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**Antígenos eritrocitarios de los grupos sanguíneos en la
población española**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Felix Colino Corral

DIRECTOR:

Vicente Gilsanz García

Madrid, 2015

5321355038

TESIS DOCTORAL

"ANTIGENOS ERITROCITARIOS DE LOS GRUPOS
SANGUINEOS EN LA POBLACION ESPAÑOLA".

Félix COLINO CORRAL

Se inició este trabajo bajo la tutela y consejo del Profesor V.GIL-SANZ , por aquellas fechas Catedrático Regente del Servicio de Hematología y Hemoterapia y con el cariñoso estímulo constante del Dr.F.L.CAMPILLO Y CANTON, jefe del referido Servicio.

La personalidad universitaria y humana de ambos, de tal amplitud y singular relieve, está fuera de todo comentario y ello nos llena de honor y orgullo, pues con su protección obteníamos el apoyo y confianza de dos insignes figuras de la Medicina.

A ellos por su amabilidad, orientación, experiencia científica e interés que me prestaron, toda nuestra gratitud.

Madrid, Abril de 1.978.

" La tragedia de toda investigación
es que una bella hipótesis puede ser ase-
sinada por un feo dato discordante ".

(HUXLEY)

"Podemos asegurar que con respecto al ser humano, existen numerosas diferencias individuales sanguíneas que ya han sido puestas de manifiesto, e indudablemente todavía existen - otras que aún no han sido establecidas. Por - el momento no puede afirmarse categóricamente si en realidad cada sangre individual posee una cualidad especial, o con qué frecuencia existe una correspondencia completa con la sangre de otro".

Karl LANDSTEINER.

Premio Nobel de Medicina (1.930).

INTRODUCCION
=====

La presente tesis versará sobre el tema : " Antígenos eritrocitarios de los grupos sanguíneos en la población española " , parcela hematológica que venimos investigando - desde hace cerca de una década. Los diferentes sistemas sanguíneos que describiremos fueron, unos, objeto de algunos trabajos publicados por nosotros en diversas Revistas médicas y extranjeras dedicadas a la especialidad que ejercemos; otros, se plasmaron en los últimos años en Comunicaciones que aportamos a Congresos Nacionales e Internacionales celebrados por la Asociación Española de Hematología y Hemoterapia y las Sociedades Internacional de Hematología y de Transfusión de Sangre; contiene, asimismo, experiencias propias que en el momento de redactar estas páginas están siendo confeccionadas para su divulgación profesional. En verdad hemos llevado a cabo una revisión y puesta al día, valiendonos para ello de múltiples consultas y de ampliación de estudios.

En efecto, los capítulos dedicados al sistema sanguíneo ABO y en gran parte el del sistema Rh-Hr, han sido modificados en su original, toda vez que en los prístinamente desarrollados, los datos obtenidos englobaban individuos procedentes de latitudes geográficas variadas y, además, al ser donantes de sangre acudían a nuestro Servicio autoseleccionados; - por razones obvias, las muestras así recogidas, como se verá en su lugar oportuno, falseaban el motivo fundamental de ésta tesis; para la investigación de los citados sistemas sanguíneos y de los restantes antígenos eritrocitarios expuestos en éste trabajo, nos hemos servido de enfermos ingresados en el Hospital Clínico de San Carlos y de hemodonadores nacidos exclu-

sivamente dentro de nuestras fronteras y con ascendencia española, ya que estos antígenos por ser desconocidos, normalmente, por los donantes de sangre, no decantaban en sentido erróneo la prospección estadística; no obstante, para desarrollar la casuística sobre el "donante universal", aprovechamos sangres de hemodonantes.

Es pues, ésta tesis, el compendio de una labor personal que venimos realizando en el Banco de Sangre del Hospital Clínico de San Carlos, en aras de una mejor Hemoterapia integrante en la agresividad creciente a la que se vé sometida de continuo la medicina. Sin embargo, los estudios que presentamos y las conclusiones que de ellos pueden aflorar, no son patrimonio exclusivo de la Hematología; los antígenos eritrocitarios gozan de privilegios y se ubican con pleno derecho en otros sectores de las ciencias médicas; verbigracia, el interés que conllevan los conocimientos sobre los antígenos estructurados en los hematies pueden deducirse de lo que manifestamos en el capítulo I.

En el desarrollo de todos y cada uno de los capítulos que edifican la tesis ofrecida, hemos seguido una sistemática paralela, procurando, siempre que ello fué factible, una exposición limpia y detallada al servicio de una mejor claridad de lo tratado en la misma; empero, no hemos podido evitar, pues eran absolutamente esenciales, un gran número de cálculos matemáticos toda vez que son imperiosos para el cumplimiento de uno de los objetivos básicos de nuestra investigación: conocer las frecuencias génicas de los sistemas sanguíneos expresados en la población española.

Otra finalidad primordial fué matizar el riesgo potencial que conlleva toda Hemoterapia, si las muestras sanguí-

CAPITULO I

AREAS DE APLICACION DE LOS ANTIGENOS DE GRUPO SANGUINEO

El interés de los grupos sanguíneos, ya comentábamos, está más allá de la Hemoterapia y de forma sinóptica sus aplicaciones son las siguientes:

A - En Genética:

A.1 - Informa sobre genética de poblaciones.

A.2 - Homogeneidad o variabilidad distributiva de genes de acuerdo con la ley del equilibrio de HARDEY-WEINBERG, conforme la genética racial, esto es, si ha habido endo o exogamia.

A.3 - Los grupos sanguíneos han servido para establecer el concepto de la codominancia.

B - En Terapéutica (Hemoterapia):

B.1 - Transfusión sanguínea.

B.2 - Inmunización feto-materna.

B.3 - Transplante de órganos.

C - En Patología:

C.1 - Variaciones fenotípicas del sistema ABO en relación con determinadas enfermedades.

C.2 - Correlaciones entre la enfermedad y los grupos sanguíneos.

D - En Medicina-Legal:

D.1 - Interés para la investigación de la paternidad civil y genética.

D.2 - Crimonología.

E - En Antropología de grupos.

A - La investigación genético-demográfica sobre los diferentes grupos sanguíneos se han realizado en la cási totalidad de las poblaciones civilizadas e incluso en algunas de las llamadas del tercer mundo, en razón a que los antígenos de grupo sanguíneo revelan diferencias étnicas y además sirven para demostrar que todos los seres humanos poseen rasgos comunes y unitarios. En este sentido son muy significativos los trabajos de MOURANT y BOYD y BOYD; aquél fué el primero en hacer mapas de distribución geográfica de los antígenos de grupo sanguíneo; los segundos analizaron muestras tomadas de momias de la época precolombina, aztecas e incas del Perú, y momias egipcias contemporáneas de Tutankhamen y llegaron a la conclusión de que ya en aquellos lejanos tiempos la distribución y frecuencias de los antígenos del sistema ABO eran prácticamente las mismas que en nuestros días.

Verdaderamente no se sabe quién debe más, si la genética a los grupos sanguíneos o éstos a aquella; pero lo que sí es cierto es que las bases matemáticas de la herencia han sido definitivamente ratificadas y confirmadas gracias al estudio de los grupos sanguíneos. Ello tiene una fácil explicación; lo primero en genética es establecer mapas cromosómicos partiendo de la coincidencia de dos caracteres genéticos en una misma familia; ésto no es factible, normalmente, con las enfermedades raras ya que las mismas sólo excepcionalmente se dán cita en una misma familia; en cambio, los grupos sanguíneos constituyen pieza clave para estos fines, pues, amén de no ser influídos o modificados por la edad, sexo, clima, alimentación, salud, etc., denotan clara vinculación entre la descendencia y los progenitores; su mecanismo hereditario es conocido hoy día con precisión absoluta; asimismo, cada población suele mostrar una determinada distribución de grupos sanguíneos, es decir, un mosaicismo genético y del cual, aunque nos ocuparemos debidamente en el desarrollo de la tésis, anticipamos algunos ejemplos; el gen B es infrecuente en América y mundo occidental, pero a medida que nos desplazamos a Extremo Oriente su incidencia es cada vez mayor; el antígeno D está presente en torno al 85 % de la población caucasiana, con excepción

de ciertas insulas ~~donde~~ desciende al 65-75 % (País Vasco), en cambio en mongoles el porcentaje alcanza del 88-100 % de la población y en mestizos mejicanos alrededor del 95 %; el gen C^W en lapones, latvios y finlandeses toma valores del 7-9 % y en el resto de la población mundial oscila entre el 2-3 %; el antígeno Sutter (Js^a) del sistema Kell-Cellano es atributo exclusivo de la raza negra. Por supuesto estamos refiriéndonos a los grupos sanguíneos con antígenos comunes, pues aquellos que son privados o familiares, verbigracia, Levay, Becker, Swann, Wright, etc., sólo tienen valores para estudios intrafamiliares, siendo para ellos una significación similar a la de las enfermedades raras.

Para la investigación de la genética demográfica o de poblaciones, cuando se trata de herencia autosómica, es muy útil la ley de HARDY-WEINBERG; en efecto, nos permite reconocer la existencia o no de endo o exogamias. Por este motivo nosotros la hemos empleado en el desarrollo de la tesis; para el cálculo de las frecuencias usamos las fórmulas de WIENER-VAISBERG, así como para la comprobación de equilibrio génico aplicamos la determinación de la probabilidad (p) en dependencia del concepto de χ^2 ; todos estos cálculos matemáticos, y otros no citados, se plasman en los distintos capítulos de la tesis.

B - El interés terapéutico de la sangre es elevado; mucho se ha escrito sobre ello y no seremos nosotros los que aquí volvamos a insistir en un tema tan conocido; pero debemos hacer resaltar que el estudio programado en la tesis tiene diversas vertientes y una de ellas era investigar los posibles riesgos inmunológicos de su aplicación terapéutica; como a lo largo de este trabajo nos ocuparemos sobradamente de este aspecto, sólo mencionaremos no sus ventajas, sino algunos de sus inconvenientes. Como punto de partida tenemos que considerar la sangre de transfusión (sangre conservada y estabilizada) como un injerto y una droga; nos explicaremos; es injerto -

pues se trata de un elemento orgánico de otro ser viviente, salvo cuando la transfusión es autóloga, y droga pues cumple el fin de éstas; la sangre conservada es una "sangre nueva" que disfruta de propiedades físico-químicas diferentes a cuando estaba contenida en el árbol circulatorio, motivando las divergencias lógicas alteraciones que inducen en ella su salida del cauce normal y las sustancias conservadoras añadidas, así como las discrasias bio-químicas derivadas de su conservación; en suma, la sangre estabilizada ha perdido su personalidad natural. La degradación de la sangre es escalonada en el curso de su conservación y traducible por una acidificación del pH, emigración del potasio intracelular al plasma, aumento de amonio plasmático, acantocitosis, aniso y poiquilocitosis, cariorrexis leucocitaria, disfunciones plaquetarias, etc. Recordemos, asimismo, la posible transmisión de enfermedades infecciosas (hepatitis, lúes, etc.)

C - La patología de la eritroblastosis fetal o enfermedad hemolítica del recién nacido está sobradamente demostrada como consecuencia de inmunización a los antígenos eritrocitarios de grupo sanguíneo.

También se han notificado importantes relaciones de los grupos sanguíneos del sistema ABO con enfermedades gástricas y duodenales, o de otras enfermedades correlacionadas con diferentes antígenos de grupo sanguíneo. De estas cuestiones nos ocupamos, en sus respectivos apartados, en la tésis.

No podemos dejar de mencionar, en esta muy superficial información, las variaciones fenotípicas de algunos antígenos del sistema ABO, en relación con enfermedades de la sangre (leucosis).

Si no abundamos en la descripción de estas eventualidades se debe a que hemos dedicado en cada capítulo un apartado específico.

D - Por ser los antígenos de los grupos sanguíneos características genéticas invariables en el curso de la vida y de inequívoca transmisión a la descendencia, resultan de un valor inestimable para la resolución de problemas de paternidad y parentesco, - siendo muchos los tribunales que asignan a estas determinaciones un carácter decisivo.

RACE y SANGER decían que pueden diferenciarse en la actualidad más de un millón de sangres distintas, pero por ampliación podemos anotar que las múltiples combinaciones génicas de grupos sanguíneos vienen a ser como la huella digital. De aquí su gran aplicación a las cuestiones referidas; si bien todos los sistemas de grupo pueden adaptarse en estas investigaciones, los que ofrecen mayor garantía son los cinco que precisamente incluimos en la tesis: ABO, Rh-Hr, MNSs, Duffy y Kell-Cellano; en ocasiones el análisis es largo y exhaustivo, pero en otras, pocas, en base a la rareza de ciertos genes, con dos o tres sistemas antigénicos es suficiente (figura XVIII). Ahora bien, debe entenderse que las investigaciones precitadas son valorables para la exclusión de la paternidad, pero nunca, o raras veces, para afirmar la misma. Con una elección apropiada de doce sistemas de grupo sanguíneo, un hombre acusado injustamente, tiene un 85 % de posibilidades de demostrar su inocencia, según KRUPE.

También los citados grupos sanguíneos, por la misma razón, son muy útiles para identificar a los recién nacidos y resolver probables cambios fortuitos en las maternidades, así como para establecer si dos mellizos son uniovulares o no.

En crimonología, asimismo, son de capital importancia, hasta el punto de que, a causa de la gran estabilidad de las sustancias de grupo sanguíneo, aún transcurrido mucho tiempo puede determinarse el grupo sanguíneo a partir de pequeñas manchas de sangre secas en las ropas; los antígenos del sistema ABO, por caso, pueden descubrirse en muestras secas de saliva, sudor, semen y extractos musculares.

E - "Los grupos sanguíneos son ideales para esclarecer el origen moderadamente remoto y reciente del hombre" y los movimientos tribales sobre la faz de la tierra. En este sentido son importantes los escritos, ya referidos, de MOURANT y BOYD y BOYD.

Que los antígenos de grupo sanguíneo son marcadores genéticos de poblaciones no admite discusión; sin embargo, este axioma está a punto de peligrar por los grandes avances de la civilización que facilitan el transporte humano y las posibles mezclas de razas; pero, por ventura, aún queda el continente africano que en notable medida ha quedado aislado del resto de la humanidad durante largo tiempo; en él precisamente pueden apreciarse algunos caracteres de grupo sanguíneo como típicos del hombre africano; el complejo R_0 (cDe) y el antígeno V del sistema Rh-Hr, los antígenos He, Hu y S^u del sistema MNSs, el Sutter (J_s^a) del sistema Kell-Cellano, el antígeno Fy del sistema Duffy, etc., son claros exponentes. Pero en otras poblaciones, menos aisladas, todavía es factible este reconocimiento; tomemos como ejemplo el antígeno C^w en nativos de Finlandia o el antígeno Diego en aborígenes mongoles.

BOYD dividía a las razas humanas en cinco categorías principales y para ello decía que las diferencias de una población a otra residían en las frecuencias de uno o más genes; así el europeo quedaba dividido en los subgrupos: 1) europeo primitivo: con las más altas frecuencias de Rh negativo y las más bajas del gen B; 2) lapones: alta incidencia de A_2 , C^w y N, mucho de gen Fy^a y muy poco de gen B; 3) europeo nor-oriental; 4) europeo central y oriental, y 5) mediterráneo.

Con el fin de no ser reiterativos en esta cuestión, remitimos al lector a los apartados de "distribución geográfica" que, en todos y cada uno de los capítulos que componen la tesis, ofrecemos; en ellos pueden observarse las fluctuaciones génicas.

CAPITULO II

HISTORIA DE LA HEMOTERAPIA

La sangre en la Edad Antigua y Moderna y su aplicación terapéutica.- Primeras transfusiones de animales a hombres.- Descubrimiento de los antígenos eritrocitarios de grupo sanguíneo.- Transfusión con sangre estabilizada y nuevas directrices.- Situación presente de la Hemoterapia en España.

Los elementos que enriquecen la farmacopea del presente se han ido integrando en ella de forma paulatina y tras minuciosa y positiva experiencia; muchos de ellos germinaron hace siglos; otros son de actual concepción; los hay de procedencia vegetal y de naturaleza animal. En tanto los primeros ya se citan en la antigua China (opio, efedra, etc.), los segundos (extracción glandulares, antibióticos, etc.) tienen nacimiento muy reciente. Pero es evidente que todos ellos han pasado por un análisis histórico, más o menos dilatado, antes de su uso habitual. Posiblemente uno de los productos más cercanos a los albores de la terapéutica, aún siendo de origen animal, sea la sangre. De su forma de administración y razón de empleo en el transcurso de los siglos, vamos a ocuparnos en este capítulo; veremos a lo largo de la descripción cómo para alcanzar el concepto actual, el hombre ha valorado la sangre desde pócima de virtudes mágicas, dotes de sabiduría y purificación de almas, pasando por aliviadora de desavenencias matrimoniales.

Las primeras referencias ciertas que sobre la transfusión sanguínea se tienen, arrancan en los inicios de la Era Cristiana ;

pero es factible suponer que el peregrinar de la Hemoterapia a través de la historia de la humanidad sea anterior a estas fechas, como se infiere de algunos escritos y manifestaciones en pinturas rupestres. Claro es que esta forma de entender la Hemoterapia pocos nexos tenía en común con la hoy día practicada. Durante largos tiempos, la superstición y la magia, los fenómenos sobrenaturales y astrológicos han dominado el pensamiento humano y la medicina, cuyas primeras andanzas se esbozaron en los ejercicios del hechicero o mago y más tarde en el sacerdote del Templo, en el pasar de los siglos, en su afán de lucha contra el dolor, ha ido plasmando las conquistas alcanzadas por la cultura de los pueblos. Los logros médicos serán por tanto paralelos al grado de civilización del hombre; desde el hechizo a la medicina espacial habrá una abismal distancia que se irá cubriendo con nombres como HIPOCRATES, GALENO, AVICENA, PARACELSO, SYDENHAM, BICHAT, etc., etc. En consecuencia, la Hemoterapia también interpretada no verá la luz hasta que la medicina se haga ciencia, circunstancia que se producirá en el siglo XIX; LANDOIS en 1.875, y LANDSTEINER, en 1.904, con las investigaciones que en otro lugar referiremos, se sumarán a aquella relación de arquitectos de la medicina; el advenimiento de las especialidades médicas terminará por impulsar la terapéutica sanguínea colocándola en el camino que abocará en su actual situación.

Saltemos nuevamente a la antigüedad. La sangre, debía tener cierta importancia en la mente del hombre de las cavernas, ya que de sus combates con los animales que le rodeaban apreciaba el interés que tenía en la muerte de sus enemigos naturales la pérdida de sangre; en la caverna asturiana de Pindal hay una pintura en la que se observa el contorno morfológico de un mamut y como única víscera representada el corazón; es posible que de sus víctimas recogieran la sangre y la bebieran. Esta hipótesis se hace realidad siglos después, cuando los romanos, según el médico Aurelio CORNELIO CELSO, saltaban a la arena de los

circos para beber la sangre derramada por los gladiadores, en la creencia de que adquirirían la fortaleza física de éstos.

En el Antiguo Testamento hay clara constancia del empleo de la sangre con fines terapéuticos; así, en el LEVITICO (14,14) se habla de cómo el Sacerdote tomando con sus dedos la sangre del animal sacrificado humedecía ciertas partes del cuerpo de los leprosos; pero también en el LEVITICO (17,11,14) se cita la prohibición expresa de comer sangre: "en la sangre está la vida. Por eso he mandado yo a los hijos de Israel: no comereis la sangre... quién la comiera será borrado"; este impedimento se contempla también en el DEUTERONOMIO (12,13) y REYES (23,17) y puesto que la vida pertenece a Dios, que la ha concebido, la antigua ley proscribió al hombre comer sangre (GENESIS 9,4; LEVITICO 3,17). En cambio, la sangre de los animales sacrificados, como hemos señalado, entre otros fines, se empleaba para expiación de los males (pecados, enfermedades, etc.) En el Nuevo Testamento, el Concilio de los Apóstoles, confirmó la prohibición de comer sangre (HECHOS DE LOS APOSTOLES 15,20; 21,25).

Los egipcios usaban los baños de sangre como tónicos reconstituyentes.

Los griegos y los romanos veían en la sangre múltiples virtudes mágicas, creyendo dotarse de la fertilidad, sabiduría y purificación del alma de quién la bebían. Así, la leyenda de MEDEA dice que ésta rejuveneció a ANQUISES introduciéndole sangre, procedente de jóvenes, por los vasos del cuello. Tal importancia llegó a cobrar la sangre que pronto surgieron quienes abogaron por su empleo terapéutico, postura, empero, que también tendría detractores; entre los defensores encontramos a EMPEDOCLES y GALILENO (siglo II antes de Cristo) y frente a ellos ERASISTRATO. COLLIN de PLANCY al hablar en su "Diccionario infernal" de sangre de toro, dice de ella: "los antiguos la miraban como un veneno". Plutarco dice que Temístocles se envenenó con esta sangre. -

Plinio que los Sacerdotes de Epiro nunca se olvidaban de proporcionarse un frasquito de esta sangre antes de bajar a la gruta donde les aguardaba el espíritu profético.

HEROFILO. 300 años antes de J.C., describe por primera vez la estructura venosa del cerebro ("prensa de Herófilo") y al igual que PRAXAGORAS distingue entre arterias y venas, desde el punto de vista anatómico.

La doctrina estequiológica del Corpus Hippocraticum, en su orientación humoralista, reseña la naturaleza del hombre constituida por humores fundamentales; sangre, flema, bilis negra y bilis amarilla.

La caída del Imperio romano y la invasión de los bárbaros del norte destruye parte de la cultura, pero el bien hacer de la civilización islámica rescata y absorbe, primero, la información recibida por los emigrados de Occidente y con la aportación de sus propias ideas, anida un nuevo cuerpo de doctrina que posteriormente, merced a la Escuela de Traductores de Toledo y Salerno, divulgarán por Europa; de esta forma conoceremos cómo el mundo musulmán desdeña la Hemoterapia, si bien, el hombre, según el CORAN, había nacido de un coágulo. No obstante, la medicina árabe sostendrá que la sangría, ya practicada por los griegos, debe hacerse contralateral, ésto es, lo más lejos posible de la zona enferma; ello creará un enfrentamiento entre la teoría galénica, defensora de la "derivación directa" y la teoría arábica, cuyos paladines se inclinarán por la "derivación revulsiva" o sangría contralateral; esta fricción alcanzaría tal magnitud y extensión por Europa que el Emperador Carlos V, temiendo que la nueva doctrina fuese "tan peligrosa como la herejía de Lutero", terminaría sometiendo la polémica a la decisión de la Universidad de Salamanca. Pero anterior a estos acontecimientos, en 1.492, el Papa Inocencio VIII había sido expuesto a una transfusión de sangre procedente de tres estudiantes; según INFESSURA y VILLARI la operación se realizó

por vía intravenosa y RAYNALDO y MATTHEWS sostienen que la sangre se le dió a beber al Pontífice; sea cual fuere la vía empleada, el resultado fué un total fracaso.

En 1.546, Miguel SERVET descubre la circulación pulmonar. Pero el primer momento crítico en la historia de la transfusión sanguínea sucede en 1.550, cuando Jerónimo CARDANO y Magno PEGELIO hablan de la posibilidad de llevar sangre de un organismo a otro. En 1.615 el químico Andrés LIBAVIO escribe acerca de la primera transfusión efectuada con dos tubos de plata. En 1.628, el médico inglés, W. HARVEY completa los estudios de M. SERVET con su descripción sobre la circulación mayor de la sangre; así, con el conocimiento anatómico-fisiológico del sistema cardio-circulatorio y los métodos comentados para hacer llegar la sangre al interior de los vasos sanguíneos, se inicia la gran carrera de la Hemoterapia que quedará jalonada hasta nuestros días por tal acúmulo de hechos anecdóticos y curiosidades, que su simple rememoración rebasaría los límites de este capítulo.

A partir de estas fechas los intentos de perfusión entre animales de una misma especie e incluso de animales al hombre serán incontables. Sin agotar el campo de las efemérides, exponemos seguidamente algunos de estos quehaceres; en 1.665, R. LOWER y E. KING llevan a cabo, en perros, transfusiones de carótida a yugular y poco después transfunden 250 ml. de sangre de la arteria de un cordero a la vena de un hombre. En 1.667, J.B.DENIS y el cirujano EMMERING obtienen un gran éxito al transfundir sangre de cordero a un enfermo anémico y tal resonancia alcanzó este acto que Denis llegó a realizar cerca de ochenta transfusiones, pero también la cuantía de fracasos le condujeron a ser acusado de asesinato y aprovechando la muerte de un sífilítico al cual Denis había transfundido tres veces, los colegas enemigos de él le culparon de haberle envenenado; enjuiciado el proceso por el Parlamento de Pa

rís éste prohibió la práctica de la transfusión, sentencia que fué respaldada por Roma, Inglaterra y la Iglesia.

Un largo silencio atestiguará estas frustraciones, pero en 1.818, BLUNDELL, alentado por los éxitos conseguidos con la administración intravenosa de drogas, resucitará el interés por la Hemoterapia y á la par que inventa un aparato útil para la transfusión, preconiza que ésta debe verificarse únicamente entre animales de la misma especie; el mismo perfunde de hombre a hombre y otros médicos siguen su ejemplo y si bién, a veces, cunde el desaliento, la positividad de estas nuevas experiencias inducen a pensar en la presencia de "algo" en la sangre de los animales que no está presente en la sangre del hombre, observación que es confirmada por LANDOIS, en 1.875, al establecer la aglutinabilidad de los hematies de un animal por el suero de los de otra especie. Por fín, K. LANDSTEINER, en 1.901, con el descubrimiento de los antígenos y anticuerpos de grupo sanguíneo ABO, desvelará las causas por las cuales se habían ocasionado tan terribles, dolorosos e incomprensibles fracasos y dictará las normas elementales que deben presidir toda "cura medeana".

Desde ese momento un verdadero alud de conocimientos nuevos en torno a la transfusión y sobre los antígenos eritrocitarios y sus correspondientes anticuerpos invadirá el siglo XX (ver capítulo: "Cronología de los antígenos eritrocitarios y anticuerpos de grupo sanguíneo"). Dicho de otra forma, los avances en Hemoterapia serán tan gigantescos y trascendentes que harán convertirse la sangre en una de las armas terapéuticas más útiles de la actualidad. Hasta 1.914, la transfusión se venía realizando de una forma directa ("brazo a brazo"), o bien mediante extracción con jeringas (tipo JUBE) y aparatos impulsores de la sangre (rodillo de JOUVELET); este proceder ocasionaba no pocos contratiempos pues, amén de no poder controlar la cantidad de sangre transfundida, provocaba, a pesar de que todos los aparatos de transfusión estaban

parafinados, la coagulación de la sangre; en aquella fecha HUSTIN publica sus estudios acerca de las propiedades anticoagulantes del citrato sódico, el cual, junto a la glucosa, empezó a utilizarse en sus transfusiones; de este modo se vislumbraban las posibilidades de la transfusión indirecta, es decir, la extracción en frascos provistos de sustancia anticoagulantes y su almacenamiento a temperaturas entre los $\pm 4^{\circ}$ C y $\pm 6^{\circ}$ C; ese mismo año AGOTE (en Buenos Aires) pone en práctica éste nuevo sistema y le siguen LE WISSHON (en Nueva York), en 1.915; HEDON y JEANBRAU en Francia, en 1.917; ulteriormente la fórmula primitiva de la sustancia estabilizadora de la sangre sufrirá modificaciones y así, del A.C.D. clásico se pasará al C.P.D., A.C.D. con aminoácidos, heparina, natrog (que aún sigue empleándose en la URSS), todo ello en un intento de hallar el anticoagulante ideal, pues no tardará en denunciarse la toxicidad del citrato, la poca viabilidad de la sangre conservada en heparina, el mejor metabolismo del hematíe en C.P.D., etc., etc.

En Méjico y la URSS, después de la segunda guerra mundial, empezó a usarse la sangre de cadáver (sangre desfibrinada) con finalidad terapéutica; sin embargo, se debe a SCHAMOV, KARAVANOV, etc. entre 1.928 y 1.934, las primeras ideas sobre este tipo de tratamiento, pero fué YUDIN el que efectuó la primera transfusión de esta sangre a un ser humano.

Ya en 1.921, P.C. GRANT, publicó un caso de autotransfusión y entre los años 1.930 a 1.940 en Chicago se abundó en este método en mujeres gestantes con necesidad de transfusión, para evitar los propios riesgos de accidentes transfusionales o inmunizaciones; este proceder es verdaderamente importante pues ha permitido resolver el problema de la transfusión a personas con un mosaico antigénico "sui generis" toda vez que la sangre autodonada puede conservarse congelada con glicerinol durante largos años.

Sin duda el descubrimiento de los antígenos eritrocitarios y la impronta de las dos guerras mundiales favorecieron la confianza, primero, y provocaron, después, el creciente uso de la terapia sanguínea. Pero España, que no había acudido a ninguno de los dos conflictos, tampoco se hace eco de la naciente "droga" y solamente en sectores muy reducidos se va introduciendo el nuevo tratamiento; ello no quiere decir que durante los años 1.935 a 1.936 no existan esporádicas donaciones altruistas que se incrementarán durante la guerra civil de modo notorio, pero descenderán a pequeña escala y casi a expensas de donaciones familiares en la postguerra; tan es así, que en el año 1.942 aparecerá un Decreto-Ley en el B.O.E. en el que se admitía y recomendaba la donación retribuida; en el año 1.944 se creará el Instituto Nacional de Hematología y Hemoterapia; los doctores ELOSEGUI y DURAN JORDA serán los pioneros de la Hemoterapia española; el Hospital Clínico de San Carlos, bajo la dirección de P. DE AGUSTIN, el 19-IV-1.949, inicia la preparación de especialistas. Pero la sangre recolectada sigue procediendo en su casi totalidad de donantes retribuidos; en principio las necesidades se van cubriendo, pero con el transcurso de los años, el mayor índice demográfico, el notable progreso de la cirugía y la mayor eficacia de la Hemoterapia, inclinan la balanza hacia el déficit, siendo preciso para neutralizar el creciente consumo de sangre, buscar nuevas fórmulas; así, a finales de la década de los sesenta y principio de la presente comienza un poderoso esfuerzo para captar hemodones altruistas; el B.O.E. de 8-XI-1971 publica una O.M. de Trabajo, reglamentando la promoción de Hermandad de Donantes de Sangre por la Seguridad Social. También inician sus campañas de captación la Cruz Roja, Sanidad Militar y en general cada provincia crea su propia Hermandad de Donantes Altruistas, que si bien empieza a recoger buenos frutos están lejos aún, si se hacen excepciones, del que proporcionalmente esperaban alcanzar; la O.M.S., en el año 1.972, recomendaba que la Hemoterapia tenía que descansar sobre un mínimo de diez gramos por habitante y año y, España, en esa misma fecha, quedaba en la precaria cantidad de seis gramos, en

tanto que Francia, Suiza y Gran Bretaña, llegaban, respectivamente, a 23 gramos, 20 gramos y 15 gramos; cierto que posteriormente las colectas de sangre se han visto francamente aumentadas, pero seguimos en clara renta negativa, pese a que, por ejemplo, en 1.975, fueron donados por miembros de las Hermandades de Donantes de Sangre de la S.S. un total de 91.708 litros. Es posible que una centralización de los Bancos de Sangre ayudaría a mitigar estas deudas y así, el Decreto de 18-XI-1.965 postulaba por la creación de una Red Nacional de Bancos Oficiales de Sangre con un carnet único de donante (B.O.E. nº 279). El año 1.970, el Alto Estado Mayor hace una propuesta nueva en este sentido y últimamente ha aparecido un Decreto-Ley (B.O.E. de 17-VII-1975) del Ministerio de la Gobernación, por el que se obliga a todos los Bancos de Sangre a proveerse solamente de sangre procedente de donantes altruistas, dando como fecha límite para este cumplimiento el 17-VII-1.977, y recientemente la O.M. de 14-V-1976 (B.O.E. de 11-VI-1976) desarrolla con meticulosidad casuística todo lo relacionado con las extracciones de sangre y el funcionamiento de los Bancos de Sangre en España.

No nos parece justo omitir en esta relación histórica, la primera transfusión intraútero realizada en España, que tuvo lugar el día 20-XI-1965, en el Hospital Clínico de San Carlos, bajo la coordinación de los Servicios de Ginecología y Obstetricia (Prof. GARCIA ORCOYEN) y de Hematología y Hemoterapia (Dr. CAMPILLO).

Si antaño las discrepancias del empleo de la Hemoterapia dimanaban de sus propios fracasos, hogaño, probados los efectos favorables de la transfusión, la cuestión reside en obtener el máximo de fracciones posibles de los componentes de la masa sanguínea, sus indicaciones precisas, nuevas vías de administración, notificación de nuevos sistemas sanguíneos y reconsideración del concepto de hemodonante y donación; ciertamente en éste concepto deben figurar los múltiples problemas sociales y humanos que la donación de sangre plantea en la actualidad, como consecuencia de la escasez que hay,

dentro de nuestras fronteras, de éste codiciado producto biológico; aún son muchos los países, entre los que nos incluimos, que para atender a la cada día más crecientes demandas hospitalarias, tienen que mantener un doble tipo de donación: altruista y remunerada.

A lo largo de esta recortada película histórica, hemos asis-
tido a los principales aconteceres del nacimiento y desarrollo de -
la Hemoterapia; no obstante, ésta no habría logrado el éxito pleno
sin el descubrimiento de los múltiples antígenos de grupo sanguíneo
alojados en el hematie. Precisamente la exposición de nuestras ex-
periencias en algunos de estos sistemas sanguíneos, será la base -
de la tesis doctoral que presentamos.

CAPITULO III

CRONOLOGIA DE LOS ANTIGENOS ERITROCITARIOS Y ANTICUERPOS DE GRUPO SANGUINEO . =====

La presente referencia histórica no es, ni lo ha pretendido ser, completa. Unicamente se citan una serie de fechas y hechos sucedidos en las mismas, como exponente demostrativo de la permanente evolución en que está inmerso el estudio inmunohematológico de los antígenos eritrocitarios. Si bien es cierto que en nuestro deseo ha estado el dejar constancia de los momentos más brillantes de ésta apasionante faceta profesional, no somos ignorantes de que, involuntariamente, habremos omitido alguna cita significativa.

- 1) 1.875.- LANDOIS describe la aglutinación de los hematies al mezclar sangre de dos especies de animales.
- 2) 1.901.- LANDSTEINER publica los grupos sanguíneos: A, B, O.
- 3) 1.902.- STURLI y Von DECASTELLO citan el grupo sanguíneo AB.
- 4) 1.910.- Von DUNGERN y HIRSZFELD formulan la transmisión hereditaria de los genes determinantes del sistema ABO, que ya EPSTEIN y OTTENBERG sospecharon
- 5) 1.911.- Von DUNGERN y HIRSZFELD desvelan los grupos secundarios (subgrupos) de los antígenos A y B.
- 6) 1.924.- SCHIFF llama la atención sobre las sustancias secretoras A y B.
- 7) 1.924.- BERNSTEIN determina la forma exacta de la herencia mendeliana en el sistema ABO.
- 8) 1.927.- LANDSTEINER y LEVINE describen los antígenos M, N y P.

- 9) 1.930.- THOMSEN, FRIEDENREICH y WORSAAE amplían las teorías de BERNSTEIN sobre la herencia del sistema ABO a cuatro genes incluyendo los subgrupos A_1 y A_2 .
- 10) 1.934.- LANDSTEINER describe el antígeno Hunter (Hu).
- 11) 1.934.- FRIEDENREICH encuentra la variedad antigénica N_2 .
- 12) 1.935.- FISHER, HAHN y FRIEDENREICH comunican la variedad antigénica A_3 .
- 13) 1.935.- MOSKOW subdivide al grupo B en B_1 y B_2 .
- 14) 1.935.- FISHER y HAHN describen la variedad A_x .
- 15) 1.937.- LANDSTEINER y WIENER perciben un nuevo antígeno, parecido a uno del mono Rhesus, dándole el nombre de factor Rh, publicándolo, el primero, su descubrimiento en 1.940 y los mecanismos de su herencia en 1.941.
- 16) 1.938.- LAURYDSEN evidencia la variedad extraña de M_2 .
- 17) 1.940.- HIRSZFELD describe el subgrupo A_4 .
- 18) 1.941.- WIENER habla del anticuerpo anti-C.
- 19) 1.942.- GAMMELGARD cita el subgrupo A_5 .
- 20) 1.943.- PIETRUSKY refiere la variante antigénica M_3 .
- 21) 1.943.- WIENER, SONN y RACE encuentran el anticuerpo anti-E.
- 22) 1.943.- RACE y TAYLOR refieren la existencia de anti-c.
- 23) 1.945.- MOURANT descubre el antígeno e.
- 24) 1.946.- CALLENDER y RACE describen el antígeno familiar Levay.
- 25) 1.946.- CALLENDER y RACE encuentran el anticuerpo anti-Lu^a.
- 26) 1.946.- STRATTON denuncia la existencia de la variante débil de antígeno D : D^u.
- 27) 1.946.- COOMBS, MOURANT y RACE describen el antígeno Kell.
- 28) 1.946.- MOURANT habla del grupo sanguíneo Lewis.
- 29) 1.946.- CALLENDER y RACE evidencian el antígeno C^w (C Willis).
- 30) 1.947.- WALSH y MONTGOMERY encuentran el anticuerpo anti-S. que viene a integrarse en el sistema MNS.

- 31) 1.947.- GILBEY observa en dos miembros de una familia el antígeno Jobbins.
- 32) 1.948.- RACE refiere la variante débil de C: C^u.
- 33) 1.948.- JONSSON y FAST describen el subgrupo A₆.
- 34) 1.949.- LEVINE identifica el antígeno Cellano y lo considera genéticamente codominante del Kell.
- 35) 1.950.- CEPPELLINI, IKIN y MOURANT aíslan la variante débil de E: E^u.
- 36) 1.950.- CUTBUSH, MOLLISON y PARKIN informan de un nuevo sistema de grupos sanguíneos, al que llaman Duffy.
- 37) 1.951.- LEVINE define el antígeno s, producido por un gen s alelomorfo del gen S.
- 38) 1.951.- IKIN y MOURANT identifican el antígeno Henshaw (H_e).
- 39) 1.951.- ALLEN revela el antígeno Kidd (Jk^a).
- 40) 1.951.- LEVINE pone de manifiesto el antígeno público Tj^a.
- 41) 1.951.- ELBEL y PROKOP describen el antígeno "privado" Becker.
- 42) 1.952.- SUSSMANN describe un accidente postransfusional motivado por el antígeno Vel (V_e^a).
- 43) 1.952.- GROVE y RASMUSSEN hallan el subgrupo A_o.
- 44) 1.952.- ESTOLA y ELO hablan del subgrupo A_z.
- 45) 1.952.- BHENDE informa del fenotipo "Bombay".
- 46) 1.953.- HOLMAN, WIENER y BROCATO identifican el antígeno "privado" Wright (W_r^a).
- 47) 1.953.- ROSENFELD define el antígeno f (ce).
- 48) 1.953.- PLAUT cita el anticuerpo anti-Jk^b y lo integra en el sistema Kidd.
- 49) 1.953.- DUNSFORD, IKIN y MOURANT definen el antígeno M^o.
- 50) 1.953.- DAVIDSOHN halla el antígeno "privado" Berrens (B_e^a).
- 51) 1.953.- WIENER anuncia el anticuerpo anti-U.
- 52) 1.954.- Van der HART aísla el anticuerpo anti-Verweyst (anti-V_w).

- 53) 1.955.- SIMMONS y WERE revelan el antígeno "privado" Batty (By).
- 54) 1.955.- RACE y SANGER incluyen el antígeno Tj^a en el sistema P.
- 55) 1.955.- LAYRISSE denuncia el antígeno familiar Diego(Di^a).
- 56) 1.955.- CEPPELLINI prueba la existencia de las variantes de D^u: "D^u hereditario" y "D^u de interacción genética".
- 57) 1.955.- MOULLEC describe el subgrupo B₃.
- 58) 1.955.- GREENWALT refiere la existencia del antígeno E^w (rh^{-w}).
- 59) 1.955.- GILES, HUNT y GROVE demuestran el anticuerpo anti-Cs^a.
- 60) 1.955.- DENATALE habla del anticuerpo anti-V.
- 61) 1.956.- WIENER y GORDON describen el subgrupo A_m.
- 62) 1.956.- WIENER muestra la existencia del antígeno I.
- 63) 1.956.- EATON publica sobre el anticuerpo anti-Yt^a.
- 64) 1.956.- CUTBUSH revela el antígeno Lu^b.
- 65) 1.956.- ALLEN pone de manifiesto los antígenos Penney(Kp^a) y Rautenberg(Kp^b).
- 66) 1.957.- WALLACE describe el antígeno Mi^a.
- 67) 1.957.- CHOWN revela el antígeno K^u y lo incluye en el sistema Kell-Cellano.
- 68) 1.957.- Van LOGHEN escribe sobre el subgrupo A_g.
- 69) 1.958.- ALLEN descubre en el sistema MNSs el antígeno Mg.
- 70) 1.958.- ALLEN y TIPPETT citan el antígeno G.
- 71) 1.958.- LEVINE diferencia la variante B_w.
- 72) 1.958.- GIBLETT evidencia el antígeno Sutter(Js^a).
- 73) 1.959.- DORFMEIER informa del antígeno Ot.
- 74) 1.959.- CLEGHORE cita por vez primera el antígeno Swann(Sw^a).
- 75) 1.960.- MATSON describe una variante del antígeno P: P^k.
- 76) 1.960.- MARSH y JENKINS identifican el antígeno i.
- 77) 1.960.- ROSENFELD y cols. demuestran el antígeno Gerbich.
- 78) 1.961.- ALLEN encuentra el fenotipo "MacLeod".
- 79) 1.961.- VAN der HART halla el antígeno público Lan.

- 80) 1.961.- VAN der HART revela el antígeno Ho.
- 81) 1.961.- CRAWFORD y SALMON hallan el fenotipo Auberger(Au^a).
- 82) 1.961.- LEVINE hace cita de la sustancia LW.
- 83) 1.961.- LIOTTA comunica la variante B_m.
- 84) 1.961.- MANN identifica el antígeno o factor ligado al cromosoma X : Xg^a.
- 85) 1.962.- CHOWN descubre el factor Wiel (D^w).
- 86) 1.962.- CLEGHORN encuentra el anticuerpo anti-Traversu (anti-Tr^a).
- 87) 1.962.- SCHMIDT denuncia el anticuerpo anti-Sm.
- 88) 1.962.- ALTER describe el antígeno González (Go^a).
- 89) 1.963.- ANDERSON identifica el antígeno "privado" Bu^a.
- 90) 1.963.- SIMMONS y ALBREY aislan el antígeno Weeb (Wb).
- 91) 1.963.- WALKER y cols. encuentran el anticuerpo anti-Js^b (anti-Matthews).
- 92) 1.964.- ALTER y ROSENFELD revelan la variante B_x.
- 93) 1.964.- STURGEON describe el subgrupo A_{el}.
- 94) 1.964.- GILES comunica la existencia del antígeno correspondiente al gen Yt^b.
- 95) 1.965.- ISSIT y cols. hacen mención del anticuerpo anti-Tm.
- 96) 1.965.- SWANSON refiere el anticuerpo Dombrock(anti-Do^a).
- 97) 1.965.- TIPPETT describe el fenotipo Luke.
- 98) 1.965.- BOWE identifica el antígeno K^w.
- 99) 1.965.- VAN der HART refiere el fenotipo M^r "Class".
- 100) 1.966.- GERSHOWITZ y FRIED detectan el anticuerpo anti-M^u.
- 101) 1.966.- CLEGHORN identifica el subsistema Mittenberger (Mi^a).
- 102) 1.966.- SWANSON revela el antígeno público Gregory (Gy^a).
- 103) 1.967.- KONUGRES y WINTER hallan el antígeno "familiar" Sullivan (Sul).
- 104) 1.967.- REUSEN observa el antígeno individual Radin(Rd).
- 105) 1.967.- VON KORNSTAD demuestra el antígeno privado Torkildsen (To^a).
- 106) 1.967.- APPLEWKAITE refiere el antígeno August (At^a).

- 107) 1.967.- HEISTO habla del antígeno Colton (Co^a).
- 108) 1.967.- VON KORNSTAD encuentra el antígeno familiar Jn^a.
- 109) 1.967.- THOMPSON identifica el anticuerpo anti-Di^b.
- 110) 1.967.- HARRIS evidencia el antígeno Chido.
- 111) 1.967.- FURUHJELM describe el antígeno Karhula (Ul^a).
- 112) 1.970.- GILES y IKIN describen el anticuerpo anti-Co^b.
- 113) 1.970.- HELGESON aísla el antígeno Knops-Helgeson (Kn^a).
- 114) 1.971.- GILES detecta el antígeno R^o Har (Rh 33).
- 115) 1.971.- ALBREY identifica el anticuerpo anti-Fy³.
- 116) 1.971.- GUEVIN refiere el hallazgo del antígeno Coté.
- 117) 1.973.- MARSH cita la existencia del anticuerpo anti-K₁₂.
- 118) 1.973.- BEHZARD comunica un nuevo anticuerpo: anti-Fy⁴.
- 119) 1.973.- I. KATHARINE dá cuenta de la existencia del anticuerpo anti-Fy⁵.
- 120) 1.974.- MARSH describe el anticuerpo anti-K₁₃.
- 121) 1.974.- STRANGE informa sobre un nuevo antígeno del sistema Kell-Cellano : Wk^a.

CAPITULO IV

MATERIAL, METODOS y FUNDAMENTOS PARA LA DETERMINACION DE GRUPOS SANGUINEOS.

Sistemática inmunohematológica en nuestro estudio. - Material, instrumentos; elementos biológicos; agua destilada y Na Cl al 0,9 %. - Métodos y fundamentos: localización y número de receptores antigénicos de grupo sanguíneo en el hematíe; características y naturaleza de los anticuerpos empleados.

Se eligieron para este trabajo donantes de sangre y enfermos ingresados en el Hospital Clínico de San Carlos.

Los primeros fueron sometidos a los estudios previos que condicionan su aptitud para ser sangrados; estos exámenes comprenden una Historia Clínica y una serie de análisis inmunohematológicos, los cuales quedan reflejados en el cuadro I.

Amén de lo reseñado, a todo hemodonante se le hacen determinaciones de hematocrito, hemoglobina, proteínas, velocidad de eritrosedimentación, tensión arterial y, si procede hemograma, plasmódios, etc.

Ya dejamos expuesto en la "Introducción" las razones por las cuales los donantes no fueron valorados para el cálculo de frecuencias en el sistema sanguíneo ABO y en gran parte del sistema Rh; ciertamente unas veces el donador se autoselecciona y otras el propio médico encargado de su elección busca cubrir las necesidades inmediatas, de acuerdo con las existencias del momento en algunos tipos de sangre; circunstancias, pues, ambas, que distorsionan la con

ESTUDIOS INMUNOHEMATOLOGICOS DE LA SANGRE

- A.- Tipaje; Investigación de los antígenos de los sistemas sanguíneos ABO y Rh e identificación con el da dor.- Subgrupos.-En los Rh (D) negativos, empleo de suero anti-CDE.
- B.- Retipaje; Comprobación de anticuerpos naturales y despig taje de grupos sanguíneos raros.
- C.- Fenotipo del sistema Rh.
- D.- Detección de formas antigénicas débiles (D^u, C^u, E^u) en hemodonantes cde/ode.-Otras variantes (C^w).
- E.- Titulación de aglutininas anti-A y anti-B.
- F.- Investigación de sustancia H.
- G.- Hemolisinas.
- H.- Determinación de anticuerpos irregulares y especificidad de los mismos.
- I.- Determinación de otros antígenos distintos del sistema ABO y Rh (Kell-Cellano, Duffy, Kidd, MNSs, etc.).
- J.- Estudio serológico de enfermedades infecciosas, con espeg cial interés de la sífilis.
- K.- Pruebas de función hepática e investigación del antigeg no y anticuerpo Australia ($HB_s Ag$ y anti- HB_s).

Cuadro I

dición imprescindible del azar que debe regir toda estadística. Ahora bien, en los Bancos de Sangre la determinación de grupo sanguíneo se orienta hacia la clasificación de antígenos del sistema ABO y Rh, y de éste fundamentalmente el factor Rh₀ (D); solamente en ocasiones especiales son investigados, y desde luego siempre a posteriori, los restantes factores del sistema Rh (C, E, c, e, D^u, etc) así como sus posibles variantes antigénicas e igualmente sucede con los aglutinógenos de otros sistemas sanguíneos (Kell, Cellano, Duffy, etc). Por estas motivaciones hemos podido hacer uso para el muestreo de un elevado número de hemodonantes.

Tanto para el estudio del sistema ABO como para el del factor Rh₀ (D) se emplearon al albur enfermos ingresados en este Hospital, sin limitación de edad y sexo; asimismo no tenían lazos familiares entre sí. Por conveniencia, excepcionalmente y dado su interés especial, la investigación abarcó algunos grupos familiares; de estas situaciones sólo aceptamos para los efectos de porcentajes el "caso propositus".

MATERIAL.

- a) Material de vidrio: Tubos de hemolisis
 - Pipetas
 - Porta objetos (láminas de cristal)

- b) Instrumentos:
 - Caja de visualización.
 - Baño de agua a 37 ° C.
 - Centrifuga (serofuga)
 - Relojes.
 - Gradillas.

- c) Elementos biológicos:
 - Hematies problema.
 - Antisueros.
 - Hematies testigo.
 - Albúmina bovina al 30 %.
 - Sueros problema.
 - Suero antiglobulina de Coombs.
 - Enzimas proteolíticas.

d) Agua destilada y solución fisiológica salina al 0,9 %.

a) Material de vidrio: Este material, si no es desechable, debe estar completamente limpio, sin trazas de suero, ya que una de las causas más frecuentes que inducen a error de interpretación es el vidrio sucio, sobre todo si las pruebas requieren el concurso de la antiglobulina de Coombs; el lavado debe ser, por tanto, concienzudo con abundancia de agua y detergente.

La determinación de grupo sanguíneo puede hacerse en portaobjetos y en tubo de ensayo (75 x 20 mms.) La elección de uno u otro material estará en consonancia con el que sea recomendado por el fabricante de los sueros comerciales; nosotros, no obstante, preferimos comprobar siempre con ambos. Hay ocasiones en que ésta mecánica no es factible; concretamente cuando la investigación de antígenos hay que hacerla con hematies diluídos en solución salina, en las pruebas que exigen uso de antiglobulina de Coombs o en la determinación del título de anticuerpos; en todos estos casos se emplea el tubo de hemólisis.

En general, sendos métodos tienen sus ventajas y sus inconvenientes. Así:

a.1 - Las pruebas en portaobjetos tienen las ventajas:

a.1.1 - son de gran sensibilidad si la sangre total empleada es fresca y los sueros potentes, debido a la presencia de plasma, el cual aumenta la avidéz de la reacción.

a.1.2 - precisan, normalmente, pequeñas cantidades de ansueros.

a.1.3. -requieren tiempo breve, máximo de dos minutos.

a.2 - Los inconvenientes son:

a.2.1 - necesitan mayores cantidades de sangre.

a.2.2 - la prueba debe repetirse si se demora la lectu-

ra, pues se corre el riesgo de deshidratación - producida por la evaporación.

a.2.3 - como consecuencia de la desecación que ocurre en la superficie del portaobjetos, la formación del fenómeno de rouleaux aumenta.

a.3 - Las pruebas en tubo tienen las ventajas siguientes:

a.3.1 - necesitan poca cantidad de sangre .

a.3.2 - el fenómeno de rouleaux y el peligro de desecación no tienen lugar.

a.4 - Los inconvenientes son:

a.4.1 - los residuos de sueros o detergentes en los tu bos pueden falsear los resultados, pues la centrifugación de los eritrocitos tiende a agruparlos alrededor de cualquier partícula extraña pre sente.

a.4.2 - es preciso la rotulación de tubos y el gasto de material es mayor.

a.4.3 - pueden aparecer formaciones de prozona después de la incubación. Este fenómeno de prozona, que puede confundirse con una reacción negativa de aglutinación, se presente cuando hay exceso de hematies, y por tanto de antígenos, y escasez de anticuerpos o gran concentración de éstos y pocos antígenos; tanto en un caso como en otro la reacción de aglutinación puede quedar enmascara da.

b) Instrumentos: Para la determinación de los factores del sistema Rh y de algunos otros antígenos, por ejemplo C^W, por el método en portaobjetos, se emplearon cajas de visualización, las cuales van provistas de una bombilla que a la par de iluminar, calienta la placa so bre la que depositamos los portaobjetos. Existen de estas cajas varios

modelos, pero todos son igualmente útiles a condición de que la iluminación y temperatura de la superficie de la caja sean uniformes; la temperatura ideal que debe alcanzar para la tipificación de los antígenos que en este trabajo desarrollamos, estará entre los 37°C y los 40 °C.; temperaturas superiores a los 50° C. incrementan la velocidad de desecación, mientras que las inferiores a 37 °C. pueden provocar falsas negatividades.

Las incubadoras que empleamos son del tipo de baño de agua, con cámara de calentamiento a 37 ° C. En su defecto, usamos en ocasiones, estufas de aire a 37 °C. Se requieren para detectar los antígenos que precisan ser enfrentados a anticuerpos de naturaleza Ig.G.

Los relojes de control de tiempo, gradillas para tubos de hémolisis y las centrifugas son similares a las utilizadas en cualquier Laboratorio de análisis. Dado el volumen de determinaciones que normalmente realizamos a diario, el riguroso control de tiempo exigido para cada prueba y que la velocidad de rotación de una centrifuga a otra varía, empleamos siempre la misma serofuga, modelo Clay-Adams, la cual tiene un radio efectivo de 10 cm. y un giro de 3.000 r. p. m.

c) Elementos biológicos: Ya hemos señalado la posibilidad de utilizar sangre total o bien diluída al 2-5 % en solución salina al 0,9 % y previo lavado en esta solución. Las muestras de sangre se recogieron - siempre con anticoagulante y, si bién no es obligado, preferimos usar sangre fresca y suspensión de eritrocitos recién preparados, toda vez que unos antígenos son más estables que otros; por ejemplo, el antígeno Kell se deteriora rápidamente.

Los antisueros empleados en inmunohematología de grupos sanguíneos son de triple procedencia:

- antisueros de origen humano.
- antisueros de origen animal.
- antisueros de origen vegetal.

En los capítulos correspondientes citaremos el tipo de antisuero empleado por nosotros; aquí nos limitamos a adelantar lo siguiente. Los antisueros de origen humano unas veces contienen anticuerpos naturales (Ig. M) y se preparan a partir de una mezcla de sueros de título de anticuerpos elevado y a este tipo pertenecen los empleados en el tipaje del sistema ABO; otras veces son antisueros con anticuerpos inhumanos (Ig. G) procedentes de una isoinmunización fetomaterna y más rara vez de inmunización postransfusional, encuadrándose en este grupo los antisueros para la tipificación del sistema Rh, Kell, Duffy, etc.

Al tipo de antisueros de origen animal pertenecen los anticuerpos anti-M y anti-N, los cuales son producto de heteroinmunización de conejo con hematies humanos de grupo M o N, según el caso.

Las semillas de múltiples plantas contienen sustancias que producen hemaglutinación, creyéndose, generalmente, que estas sustancias son proteínas o mucoproteínas; las semillas que tienen tales propiedades se llaman fito-aglutininas o lectinas y las más corrientemente empleadas son:

- *dolichus biflorus*, contiene anti-A₁.
- *ulex europeus*, contiene anti-H.
- *vicia graminea*, contiene anti-N.
- *iberis amara*, contiene anti-M.

La calidad de los antisueros es una cuestión que mimamos continuamente, ya que de ella depende la ortodoxia de los resultados; de aquí que al empezar nuevos lotes de antisueros siempre comprobaremos su efectividad y veracidad de lo referido por el fabricante; éstas comprobaciones se realizan con hematies testigo, ésto es, de estructura antigénica conocida, que preparamos o vienen convenientemente elaborados en forma de "panel".

La albúmina bovina al 30 % se usa en los Bancos de Sangre -

durante las pruebas cruzadas o en la identificación de anticuerpos irregulares; nosotros nos ayudamos de ella con esta última finalidad dado que la detección de los antígenos objeto de la tésis se hace con antisueros enriquecidos ya en su fabricación con albúmina, cuando se trata de anticuerpos Ig.G. En la búsqueda de anticuerpos irregulares se hace necesaria la prueba de Coombs indirecta o de la antiglobulina, para cuya realización es precisa como fase previa la adición de albúmina bovina, toda vez que la albúmina estimula la asociación de anticuerpos, o bien entorpece su disociación durante la incubación.

Al uso de sueros problema le damos doble vertiente; confirmación cuali y cuantitativa de anticuerpos naturales (Ig.M) en el sistema ABO y despistaje de subgrupos poco frecuentes, de un lado; de otro, búsqueda de anticuerpos irregulares o inmunes y especificidad de los mismos. Del interés de estas investigaciones nos ocuparemos en su lugar oportuno.

La antiglobulina de Coombs o globulina antihumana sirvió para poner en evidencia aquellos anticuerpos que se fijan a los hematies sin producir su aglutinación, pero sí bloqueándolos. Por supuesto que su forma de acción es sobradamente conocida y, por ende, no vamos a ser exhaustivos. El principio de la reacción antiglobulina es el siguiente: normalmente las muestras de eritrocitos tomadas de un organismo están bañadas en suero o plasma; este suero puede eliminarse con lavado minucioso en solución salina de los hematies; si en estas condiciones agregamos a los hematies lavados suero antiglobulina, no sucede nada, pues entre aquellos y éste no hay globulina presente y lo único que ocurrirá es que la antiglobulina rodea los glóbulos pero no los aglutina. Ahora bien, si los hematies así tratados habían absorbido moléculas de inmunoglobulinas, ésto es, pertenecían a personas sensibilizadas, y en consecuencia habían fijado globulina anticuerpo a los antígenos en la superficie globular, al agregar suero antiglobulina formarán puentes entre las moléculas de globulinas, con lo cual el resultado final será la aglutinación de los glóbulos rojos. Por

tanto, la prueba de la antiglobulina de Coombs tiene lugar en dos fases: "sensibilización" y "antiglobulina"; es decir, primero es preciso sensibilizar a los hematies problema con anticuerpos específicos no aglutinantes, de tipo Ig.G. en su mayoría, de grupo sanguíneo (por ejemplo, D^u, Cellano, Duffy, etc.) después de incubados los hematies en estudio serán lavados y se añadirá a los eritrocitos sensibilizados, éste es, provistos de inmunoglobulina, un antisero contra globulina humano, o sea, la antiglobulina de Coombs (ver capítulo X).

De las enzimas proteolíticas haremos una descripción en el capítulo X.

d) El agua destilada es necesaria para la preparación de sueros liofilizados (S, s, Fy^a, Fy^b, etc.) y la solución fisiológica salina al 0,9 es necesaria para liberar, mediante lavado, a los hematies de todas las sustancias que puedan ocasionar falsas aglutinaciones, como por ejemplo el ion calcio o macroglobulinemias.

METODOS Y FUNDAMENTOS. - Las técnicas seguidas para la detección de los antígenos eritrocitarios las describiremos detalladamente al ocuparnos de ellos en sus correspondientes capítulos. Ahora consignaremos la necesidad existente de emplear distintos procedimientos en virtud de lo que a continuación transcribimos; la superficie de los hematies tiene una morfología rugosa, con entrantes y salientes en los cuales las macromoléculas de los grupos sanguíneos se agrupan, conforme una distribución definida, en cantidades distintas siempre para cada sistema; cada determinante antigénico o "receptor" asienta en la superficie de la membrana del eritrocito; así para el sistema ABO se cree que en un sólo hematie puede haber en torno a los 7 millones de receptores, para el sistema Rh entre 10.000 y 30.000, para el sistema Mell de 3.000 a 8.000 y para el sistema Duffy entre 1.000 y 3.000 determinantes antigénicos. Además, los mencionados receptores se localizan más o menos profundamente en la superficie del glóbulo rojo; de esta manera los recep

tores del sistema ABO se sitúan por igual tanto en los salientes como en los entrantes, en el sistema MN se encuentran, de preferencia, en los salientes y, en cambio, para los sistemas Rh, Duffy y Kell en los entrantes principalmente. Todo ésto explicará el porqué para la determinación de grupos sanguíneos las metódicas a seguir son diferentes según el número, naturaleza y situación de los determinantes antigénicos; asimismo las estructuras químicas de los anticuerpos específicos, como ya veremos, no obedecen al mismo patrón. Por ello en tanto unos antígenos se manifiestan a temperatura ambiental otros precisarán de incubación previa a 37°C.; aquellos aglutinan frente a antisueros naturales (Ig M.) en medio salino, como es el caso de los antígenos del sistema ABO y MN; los últimos requerirán para ponerse en evidencia enfrentarlos a antisueros inmunes (Ig. G), medio albuminoideo y suero antiglobulina de Coombs, siendo ejemplo de ellos los antígenos S y s, Fy^a, k, Kp^a, etc. Si tomamos como medida el sistema MNSs apreciaremos que aún los antígenos integrados en un mismo sistema grupal, no son solidarios con la misma técnica. Es más, los aglutinógenos del sistema Rh reaccionan en su mayoría con anticuerpos anti-Rh de variedad inmune (Ig. G) y sólo algunos aglutinarán en presencia de anticuerpos anti Rh salinos (Ig. M).

En consecuencia la reacción inmunológica entre el antisuero y los eritrocitos, portadores de los antígenos correspondientes, puede hacerse visible en solución fisiológica salina al 0,9 % sin ayuda de otras sustancias y en cuyo caso hay una "aglutinación completa"; la temperatura de reacción puede ser de 37 ° C y también en frío (4 ° a 25° C); los anticuerpos aquí involucrados se han llamado por eso "anticuerpos completos", aglutinantes o salinos y su contextura química pertenece, por lo general, a las inmonoglobulinas Ig. M, aunque también pudieran ser Ig. G (e incluso Ig. A). En cambio, si en el ambiente salino se produce la unión de los anticuerpos con los antígenos específicos, pero sin aglutinación visible, hablamos de "aglutinación incompleta"; aquí para lograr la aglutinación serán precisos un

medio albuminoideo y condiciones suplementarias, tales como incubación, antiglobulina de Coombs, enzimas proteolíticas, etc.; los anticuerpos participantes serán "incompletos", bloqueantes, albuminoideos e inmunes, dado que estos anticuerpos específicos aparecen, casi siempre, como consecuencia de una inmunización a antígenos extraños; estos anticuerpos incompletos, al adherirse al hematíe bloquean e impiden la aglutinación de los eritrocitos por las aglutininas completas; pero hay otra variedad de anticuerpos incompletos llamados criptoaglutinoides que no bloquean y aglutinan al hematíe con ayuda de albúmina y suero antiglobulina; su estructura inmunoquímica corresponderá a la de las inmunoglobulinas Ig. G.

No es nuestra intención extendernos en explicaciones sobre inmunoglobulinas, temática en permanente revisión y desarrollo, pues es tanto lo que sobre ellas se ha escrito que su simple descripción sería objeto de numerosas tesis. Nosotros nos ceñiremos a aquella parte de las mismas que nos es necesaria para el desarrollo de este trabajo. Pues bien, en este tipo de reacción antígeno-anticuerpo a que nos estamos refiriendo, vemos que solamente participan, de los cinco grupos de inmunoglobulinas conocidas hasta hoy, dos inmunoglobulinas, Ig. G e Ig. M, aunque igualmente, pero en menos volumen, puede hacerlo la Ig. A. Estos isoanticuerpos tienen una estructura básica representada por una proteína dotada de cuatro cadenas de polipeptidos paralelas entre sí y unidas por puentes de disulfuro establecidos entre los aminoácidos cisteína, creando así una molécula simétrica; dos cadenas son pesadas y largas (H) y dos son ligeras y cortas (L) y tanto unas como otras poseen una porción variable (λ) y otra constante (K); la porción constante (K) de las cadenas pesadas (H) es diferente de una inmunoglobulina a otra y esto ha permitido su clasificación en Ig. M, Ig. G., Ig. A., Ig. E. e Ig. D, según estas cadenas pesadas sean μ , γ , α , ϵ y δ , respectivamente (ver figura: I); las porciones de las cadenas pesada o ligera que se califican de variables (λ) son las zonas que confieren la especificidad antigénica (ver Figura: II); esto hace suponer que por analogía con la

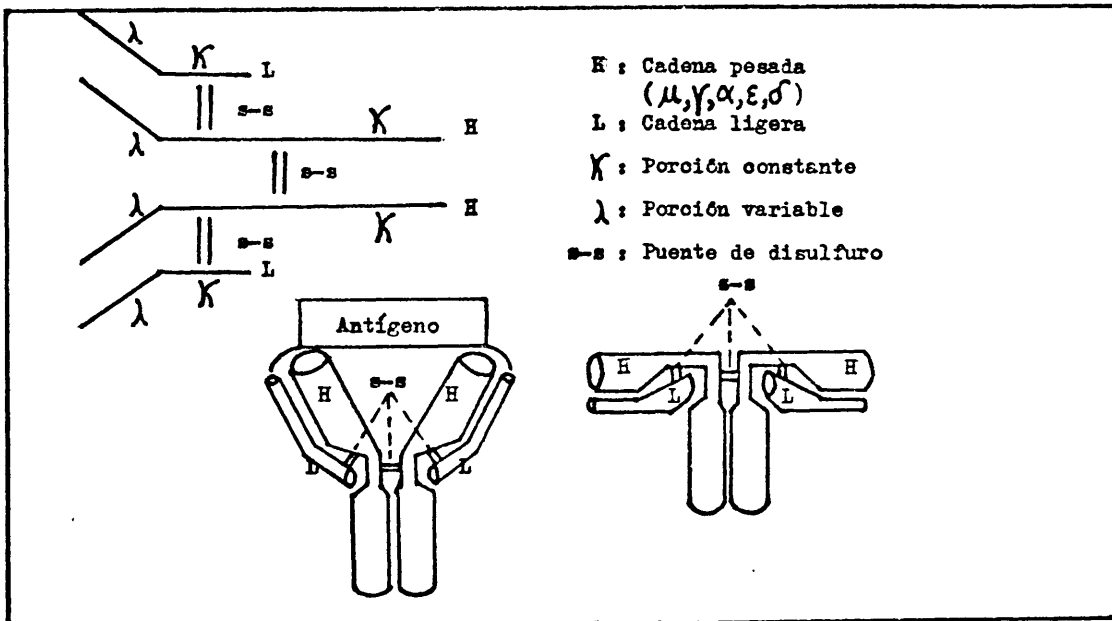


Figura I
(Estructura de la molécula de inmunoglobulina)

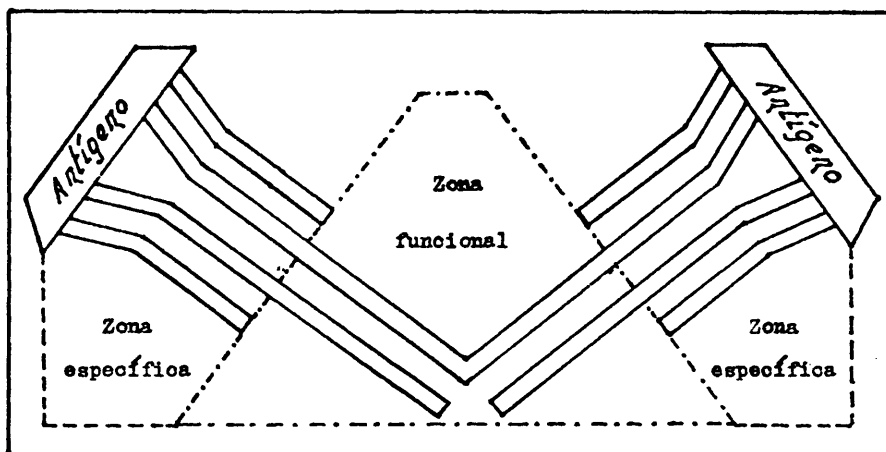


Figura II

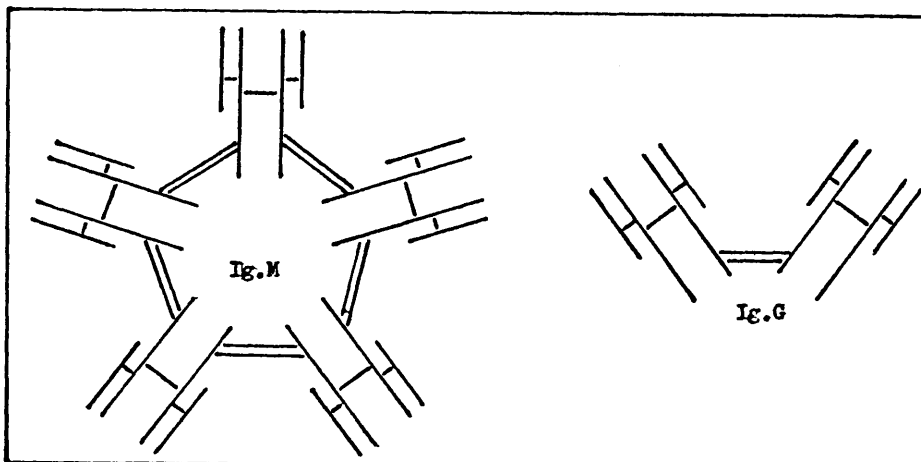


Figura III : esquema de asociaciones moleculares

especificidad de las enzimas, se origine una molécula de anticuerpo - con una hendidura característica y complementaria, en su conformación, a la del determinante antigénico con el que reacciona el anticuerpo y en los que se ajustará el determinante; ésta forma de molécula de anticuerpo habría sido establecida por su estructura primaria.

En la estructura de las inmunoglobulinas hay también una zona funcional integrada por el extremo distal de la porción constante de las cadenas pesadas (ver Figura II); en esta zona funcional se verifica la unión entre varias gamma-globulinas; las moléculas de Ig.G. disponen de dos puntos de enlace para anticuerpos y las moléculas - de Ig.M. de cinco puntos; por consiguiente las moléculas de Ig. G. pueden asociarse de dos en dos y las de Ig. M. de cinco en cinco - (Ver Figura III); ello quiere decir que mientras una pareja de hematies pueden mostrar aglutinación visible con 3 ó 4 moléculas de IgM., para obtener el mismo resultado se requerirán más de 100 moléculas de Ig.G.

Si los receptores antigénicos están situados en la profundidad del relieve de la superficie del hematie, las asociaciones de moléculas Ig.G, pequeñas de tamaño, son incapaces, a veces, de alcanzar las distancias entre dos receptores situados en dos eritrocitos distintos; las asociaciones de moléculas Ig.M., más grandes, son capaces de hacerlo.

Ejemplo práctico podemos contemplarlo en los sistemas ABO y Rh; apuntábamos antes la situación más superficial de los antígenos ABO y que sus anticuerpos correspondientes eran del tipo Ig.M.; por ello para su detección bastará una pequeña cantidad de hematies problema y antisuero específico; en cambio, para el sistema Rh serán - necesarias mayores cantidades de hematies problema y antisuero anti-Rh, toda vez que la localización de sus receptores antigénicos es más profunda y el anticuerpo anti-Rh es de tipo Ig.G.

Importante es, entre otros para la confección de antisueros, que la unión de los anticuerpos con sus respectivos antígenos no constituye una reacción química, sino que se produce a partir de fuerzas electrostáticas y fuerzas de "Van der Waals"; por lo mismo las reacciones antígeno-anticuerpo son en principio irreversibles y así una vez destruido el antígeno o cambiando el medio ambiental, el anticuerpo puede separarse de su antígeno correspondiente y unirse a otro (fenómeno de elución).

Permítasenos terminar el capítulo con un glosario de los distintos sinónimos manejados para la denominación de los anticuerpos a que hemos hecho alusión para la determinación de grupos sanguíneos, sinónimos que incluyen su función, estructura química, peso molecular, temperatura de acción, etc., en el presente cuadro II.

ANTICUERPOS DE GRUPO SANGUINEO: SINONIMIA	
Aglutinantes	Bloqueantes
Bi ó polivalentes (se combinan 5 moléculas Ig.M)	Univalentes (se combinan 2 moléculas Ig.G)
Salinos	Albuminoideos
Fríos (4°C. 25°C.)	Calientes (37°C.)
Completos (aglutinación visible directa)	Incompletos (necesitan suero antiglobulina)
Macroanticuerpos (γ_1M ó β_2M)	Microanticuerpos (γ_2 ó γ_{SS})
19 S. (constante de simentación)	7 S.
Peso molecular: 1.000.000 aprox.	Peso molecular: 140.000 aprox.
Ig. M. (no atraviesan barrera placentaria).	Ig.G. (atraviesan barrera placentaria)
Termolábiles	Termoestables.
Naturales	Hiperinmunes.
Inmunes precoces	Inmunes tardíos

Cuadro II

Algunas características de estos anticuerpos se resumen en el Cuadro III.

ANTICUERPOS DE GRUPO SANGUINEO : CARACTERISTICAS
(Tomado de CHARLES-FRIEDMAN)

I.-) Tamaño molecular :

I.-1.) Salinos, completos, 19 S :

Anti-A, Anti-B, Anti-AB, Anti-M, Anti-N,
Anti-P₁.

I.-2.) Incompletos, bloqueantes, 7 S :

Anti-K, Anti-k, Anti-S, Anti-s, Anti-Fy^a,
Anti-Jk^a, Anti-Jk^b y la mayoría del sistema Rh.

I.-3.) Mixtos :

Anti-Le^a, Anti-Le^b, Anti-M, anti-N, Anti-S,
Anti-Duffy, Anti-Lutheran, Anti-A, Anti-B,
Anti-Rh, Anti-Kidd, Anti-Sutter y anti-Xg^a.

II.-) Comportamiento serológico :

II.-1.) A 37°C : Anti-Rh, Anti-Kell, Anti-Duffy,
Anti-S, Anti-s, Anti-Lewis y
Anti-Kidd.

A 4°C-24°C : Anti-A, Anti-B, Anti-AB, Anti-M,
Anti-N, Anti-Lewis y Anti-P.

II.-2.) Medio albuminoideo :

Anti-Rh reaccionan bien; Anti-Kell y Anti-Lewis, escasamente, y Anti-Kidd ; Anti-Duffy y Anti-s no se detectan.

II.-3.) Test de Coombs :

Anti-Rh, Anti-S, Anti-K, Anti-Jk^a,
Anti-Lewis, Anti-P, algunos Anti-Fy^a; Anti-A y Anti-B inmunes.

ANTICUERPOS DE GRUPO SANGUINEO : CARACTERISTICAS
(Tomado de Charles-Friedman)

II.-) Comportamiento serológico (continuación) :

II.-4.) Enzimas :

Papaina : Potencia marcadamente los Anti-Rh, Anti-Lewis y Anti-P. Escasa acción sobre Anti-K. Altera con frecuencia Anti-M, Anti-N y Anti-Duffy.

Tripsina: Potencia Anti-Rh, Anti-Lewis y Anti-P. Escasa acción sobre Anti-M, Anti-N, Anti-S, Anti-Duffy, Anti-Kell .

Ficina : Satisfactoria en Anti-I, Anti-Kell, Anti-Kidd, Anti-Rh, Anti-P y Anti-Lewis. Inhibe Anti-M, Anti-N, Anti-S y Anti-Duffy.

Bromelina: Potencia Anti-Rh, Anti-Lewis y Anti-P. Escasa acción en Anti-M, Anti-N, Anti-S, Anti-Duffy, Anti-Kell y Anti-Kidd.

II.-5.) Complemento : Potencia Anti- Le^a , Anti-Duffy(Fy^a) Anti- Jk^a y algunos Anti-K.

II.-6.) Efecto de dosis : ciertos antisueros actúan más intensamente cuando existe el antígeno en estado homocigótico:

Efecto de dosis intenso: Anti-c, Anti-E, Anti-e, Anti- Jk^a , Anti-M, Anti-Kell.

Efecto escaso: Anti-C

CAPITULO V

SISTEMA SANGUINEO ABO

Descripción del sistema. - Nomenclatura; antígenos y anticuerpos. - Grupos, subgrupos y variantes del sistema ABO. - Concepto de "donante universal". - Genética y herencia en el sistema ABO. - Composición y estructura química de los antígenos A, B y H. - Sistema - ABO y las enfermedades. - Su distribución geográfica. - Material y métodos de Laboratorio. - Nuestra casuística. - Comentario final.

Descripción del sistema.

El anecdotario tragicómico de la Hemoterapia, algunas de cuyas efemérides ya hemos expuesto en el capítulo II, termina afortunadamente con el descubrimiento por Karl LANDSTEINER, en 1.900, del sistema sanguíneo ABO; hasta esta fecha los intentos de practicar una Hemoterapia, entendiéndose sin base científica, jalonan unas - veces en forma humorística, otras mortal y en muy pocas con final sorprendentemente feliz, el camino que aboca en la magnífica revelación de LANDSTEINER; este inmunólogo vienés publicaría en - Centralblattbakt un trabajo en el cual mostraba cómo cuando cruzaba el suero de cada uno de sus colaboradores y el suyo propio con la sangre de los demás, unos hematies no eran aglutinados por ningún suero, mientras que otros sí; por suerte entre aquellos seis hombres había diferentes grupos y LANDSTEINER pudo decir: "el doctor STURLI y el doctor ERDHEIM pueden tener el mismo grupo sanguíneo".

Sin embargo, en honor a la verdad, tenemos que recordar los precedentes que habían de conducir a este descubrimiento; son múlti

ples, pero fué realmente LANDOIS, en 1.875, quien al comprobar la aglutinación de los hematies de una especie animal cuando se mezclaban con los de otra especie, sentó los principios empíricos que llevarían a LANDSTEINER a su transcendental notificación. LANDOIS dejaba definitivamente establecido que la transfusión sanguínea había que hacerse siempre entre individuos de la misma especie animal; LANDSTEINER agregó que para optar al éxito transfusional debía realizarse siguiendo características determinadas; marcará así éste hematólogo un auténtico hito diferencial en la Historia de la terapéutica contemporánea cuyas consecuencias sensacionalmente positivas posiblemente ni él mismo llegó a sospechar; si hasta ese momento plurales habían sido los intentos de crear una Hemoterapia y no habían prosperado por perderse la dialéctica galénica en senderos equívocos, el nuevo enfoque del problema constituirá los cimientos sobre los que va a elevarse el formidable edificio de la Hemoterapia presente.

En 1.901, LANDSTEINER, en su trabajo "Sobre los fenómenos de aglutinación en la sangre normal humana" ("Uber Agglutination - serscheinungen normaler menschlicher Blute") comunicaba el descubrimiento del sistema ABO con tres grupos sanguíneos, el A, el B y el O (que realmente él denominó A, B y C), en función de las aglutinaciones que encontró en el suero. Poco después, en 1.902, sus colaboradores STURLI y Von DECASTELLO, repitiendo las experiencias de aquél, encontraron un suero que no aglutinaba a ningún hematie, "sin tipo", y que había de ser el cuarto grupo del sistema (grupo AB) y cuya característica era la ausencia total de aglutininas anti-A y anti-B. Independientemente, en 1.906, JANSKEY y, en 1.910, MOSS, efectuaron una clasificación fisiológica de los individuos también en cuatro grupos y para su denominación eligieron cifras romanas (cuadro IV).

En 1.908, EPSTEIN y OTTENBERG sospechan la heredabilidad de los antígenos del sistema ABO y, en 1.910, von DUNGERN y

HIRSZ-FELD ratifican esta hipótesis al formular la transmisión hereditaria de los genes determinantes del sistema ABO. Un año después, en 1.911, estos dos investigadores, absorbiendo las aglutininas anti-A de sueros de los grupos B y O, desvelan la existencia de los subgrupos A_1 y A_2 .

En 1.924, SCHIFF llama la atención sobre las sustancias secretoras A y B y BERNSTEIN demuestra que la herencia del sistema ABO sigue la ley de MENDEL.

En fin, la abundante profusión de nuevos datos aportados a la Historia del sistema sanguíneo ABO es tal que su simple descripción rebasaría los límites que nos hemos trazado en este capítulo; por lo mismo en el siguiente apartado citaremos los de mayor relieve.

Nomenclatura; antígenos y anticuerpos. -

El sistema ABO está definido por tres antígenos, los cuales a su vez dan lugar a cuatro grupos sanguíneos; los antígenos A y B, - codominantes entre sí, se responsabilizan de los grupos A, B y AB; el antígeno o sustancia H está presente en el grupo sanguíneo O, en el que durante largo tiempo se creyó había ausencia total de antígeno y por lo mismo algunos autores hablan de sistema sanguíneo - ABH.

En relación con los otros sistemas sanguíneos que ulteriormente estudiaremos en esta tesis, la principal diferencia que hallamos es la presencia de anticuerpos aglutinantes naturales y reciben el nombre de anti-A (α) y anti-B (β). Todo ello queda reflejado en el cuadro IV.

Antígenos en los eritrocitos	Aglutininas en el suero	Grupos según nomenclatura		
		JANSKY	MOSS	Internacional
H ?	α y β	I	IV	O
A	β	II	II	A
B	α	III	III	B
A y B	-	IV	I	AB

Cuadro IV

Las nomenclaturas numéricas de JANSKY y MOSS tienen sólo un valor histórico pues pronto fueron desplazadas por HIRSZFELD quien propuso designar a los grupos sanguíneos por letras, lo cual fué aceptado por el Congreso de Medicina Legal y Social y más tarde por el propio LANDSTEINER, quedando los cuatro grupos con las denominaciones O, A, B y AB.

Más adelante veremos cómo se han ido descubriendo nuevas variantes antigénicas que permiten establecer una larga serie de subgrupos sanguíneos ABO.

El antígeno H en la actualidad se le considera una forma intermedia en la evolución de la sustancia base hacia la específica de las sustancias A y B, de tal forma que todos los hematies humanos poseen sustancia H en cantidades variables, correspondiendo la máxima representatividad de sustancia H a los hematies de grupo O y la mínima a los grupos A_1 y A_1B (ver figura VI). Con arreglo a las teorías de MORGAN, WATKINS, BOORMAN, DODD y GILBERG esta sustancia H sería fundamental y de carácter auténticamente antigénico.

Los antígenos de grupo sanguíneo que describimos están ligados a la estructura del eritrocito, si bien se ha comprobado la presencia de estos antígenos en los leucocitos y plaquetas y en la mayoría de los tejidos y secreciones (en secretores).

THOMSEN, en 1.930, por absorción demostró la existencia de antígenos A y B en los leucocitos y DAUSSET cree que estos antígenos son intrínsecos de los leucocitos y no absorbidos del plasma.

La localización en las plaquetas de esos antígenos fué probada mediante aglutinación directa, en 1.954, por GUREVITCH y NELKEN y posteriormente lo reafirmaron por diferentes procedimientos

DAUSSET, JANKOVIC y YUNIS y YUNIS.

Tanto en secretores como en no secretores COOMBS, BED - FORD y ROUILLARD denuncian, en 1.956, que las células epitelia - les y de la epidermis contienen antígenos A y B, ratificación que hicieron NELKEN, GUREVITCH y YUNIS y YUNIS; éstos dos últimos investigadores detectaron también en los tejidos el antígeno H.

En la actualidad aún se discute si los espermatozoides con - tienen o no estos antígenos.

MORGAN y van HEYNIGEN encontraron sustancias de grupo A, B y H en el líquido de quistes pseudomucinosos de ovario de se - cretor; BOYD y BOYD las aislaron en momias precolombinas perua - nas y FURUHATA y colbs. en momias del norte de Japón. CANDELA fué el primero, en 1.935, en descubrirlas en huesos secos y TORAL y SALAGAN en restos óseos de las tumbas de Monte Albán. Los an - tígenos A y B han sido asimismo encontrados en córnea humana por NELKEN y colbs. y por ello sugieren la importancia de la incompatibilidad ABO en los injertos de córnea. YOSHIDA y BUCHANAN de terminaron estas sustancias en el meconio de fetos secretores.

En general las sustancias A, B y H presentes en los tejidos son liposolubles, formadas por complejos glucolípidos en cadenas la - terales de polisácaridos, en los que reside la especificidad serológi - ca, en tanto que las sustancias A, B y H que se encuentran en los secretores son hidrosolubles, formadas por glucoproteínas. La con - centración de estos antígenos en los distintos tejidos y secreciones, la resumimos en el cuadro V (tomado de ZMIJEWSKI).

Fuera del cuerpo humano las sustancias A, B y H están muy difundidas por la naturaleza, hallándose en muchos animales, plan - tas y bacterias. Algunos animales muestran en sus eritrocitos antí - genos y anticuerpos comunes o parecidos a los del hombre, verbi - gracia, en monos Rhesus se descubrió la presencia del factor Rh₀(D)

CONCENTRACIONES ANTIGENICAS EN TEJIDOS Y SECRECIONES

SECRECIONES	PORCENTAJE
Jugo gástrico	100
Saliva	82
Bilis	74
Líquido seminal	69
Orina	16
ORGANOS y TEJIDOS	
Estómago	100
Duodeno	90
Yeyuno	80
Vesícula biliar	78
Glándula submaxilar	76
Esófago	70
Páncreas	66
Ileo	56
Psoas	41
Glándula suprarrenal	40
Vejiga	40
Parótida	40
Gánglios linfáticos	37
Riñon	37
Grasa	36
Próstata	34
Hígado	34
Miocardio	33
Vesícula seminal	29
Pulmón	29

Cuadro V

(Tomado de ZMIJEWSKI)

y en monos africanos se aprecia un predominio del antígeno B y del censo del A, en tanto que en orangutanes parece ser que no hay sustancia H. Sobre las aglutininas halladas en animales, bacterias y plantas escribiremos posteriormente.

Si bien la antigenicidad de un individuo, respecto a los aglutinógenos A, B y H, queda marcada desde el mismo instante de la fecundación ovular, toda vez que los antígenos del sistema ABO se transmiten hereditariamente siguiendo las leyes mendelianas, en el momento del parto el desarrollo de los antígenos A y B no es completo, por lo que las reacciones de los antisueños anti-A y anti-B suelen ser más débiles con los hematies de un niño que con los de un adulto y desde luego la determinación de los subgrupos es prácticamente imposible, manifestándose el grupo A como A₂. DAUSSET y KEMP han demostrado en embriones de 37 días el antígeno A; ahora bien, CONSTANTOULAKIS y KAY estudiaron gran número de fetos y comprobaron que el título de antigenicidad no aumenta durante la vía intraútero; el desarrollo antigénico se completa en los primeros meses de la vida, entre el 6º y el 12º mes, y el título de antigenicidad va "in crescendo" hasta los veinte años, sin que durante el resto de la vida sufra alteraciones si exceptuamos las modificaciones debidas a una patología definida; en efecto, el antígeno A es variado en su expresión serológica, bien por debilitación o mutación genética, en pacientes afectados de enfermedades en la serie blanca; estos hechos han sido probados por van LOGHEM y cols. en un enfermo con leucemia mieloblástica, STRATTON y cols. en una anemia hipoplásica, GOLD y cols. en una leucemia monoblástica, etc.; posteriormente se han descrito modificaciones también del antígeno B y H. La explicación a estas aberraciones es difícil de dar; se invoca que el cambio puede deberse a alteraciones en las vías sintetizadoras de los antígenos eritrocitarios que tiene lugar antes de la acción de los genes ABO; lo cierto es que en una persona pueden haber antígenos adquiridos por estos mecanismos y coexistir junto a los que genéticamente le corresponden; STRATTON y RENTON estudiaron casos de B adquirido o pseudo-B y sugieren que los pacientes afectados de estos casos sufrieron el cambio por adsorción

de un polisacárido bacteriano semejante al B sobre los glóbulos rojos, y que posiblemente la alteración tenía su origen en infección por *E. coli* O₈₆, dada la proximidad serológica entre este microorganismo y el antígeno B.

En definitiva, la antigenicidad viene marcada por la herencia, pudiéndose determinar el grupo sanguíneo del feto a partir del tercer mes de vida intraútero y desde el momento del parto se inicia el desarrollo final del antígeno alcanzando la máxima concentración de receptores antigénicos entre el primer y segundo año de la vida; esta concentración es fluctuante, según los estudios que en el cuadro VI se detallan, admitiéndose actualmente que alcanza en la membrana de los hematies, aproximadamente, de 0,8 a 7 millones de receptores, localizados indistintamente en las concavidades y convexidades de la membrana.

Número de receptores antigénicos A:			
A ₁ adulto	:	810.000	a 1.170.000
A ₁ cordón	:	250.000	a 370.000
A ₁ B adulto	:	460.000	a 850.000
A ₁ B cordón	:	220.000	
A ₂ adulto	:	240.000	a 290.000
A ₂ cordón	:	140.000	
A ₂ B adulto	:	120.000	
Número de receptores antigénicos B:			
B adulto	:	610.000	a 830.000
A ₁ B adulto	:	310.000	a 560.000

Cuadro VI
(Tomado de ECONOMIDOU)

Las aglutininas del sistema ABO corresponden en general al grupo de las Ig.M y son llamadas naturales o "completas"; no exis

ten en el momento del nacimiento, apareciendo entre el 3º y 6º mes de edad, alcanzando su acmé en la pubertad, hacia los 14 ó 16 años, y luego descienden sus títulos paulatinamente hasta la senectud, donde a veces pueden incluso desaparecer; por lo tanto, en un recién nacido, la confirmación del grupo ABO por el método inverso, con el suero del niño, no es posible y en caso de detectar anticuerpos anti-A o anti-B, debemos sospechar que los mismos han sido adquiridos en forma pasiva de la madre. Los títulos están sometidos a fluctuaciones durante toda la vida; así, en la primavera y otoño (SHAW y STONE) aumentan y durante la menstruación y en procesos neoplásicos disminuyen, pudiendo desaparecer en hipo o agammaglobulinemias o en casos de mielomas, leucemias, etc. Como dato curioso comentamos el del "quimerismo": cuando en un embarazo gemelar bivitellino los fetos son de los grupos A y O, por caso, y hay un paso de hematies A al feto del grupo O, por un conocimiento de estos antígenos durante la vida intrauterina puede bloquear la capacidad de producción de anticuerpos anti-A y después, en la vida extrauterina, encontraríamos en una persona del grupo O que no tendría aglutininas anti-A en su suero.

Fuera del suero se han localizado anticuerpos anti-A y anti-B en la leche y líquido ascítico y en la saliva de ciertas personas. PROKOP dice que estos anticuerpos están con mucha mayor frecuencia en la saliva de grupo O, lo cual fué ratificado por HUMMER y SCHÖCH; asimismo PROKOP y cols. demostraron la existencia de anti-A y anti-B en las lágrimas.

Según su especificidad se pueden distinguir, fundamentalmente, dos tipos de aglutininas, las anti-A y anti-B, aunque también tendremos que considerar dentro de este sistema a las anti-H y anti-O, Por lo general el título de anti-A suele ser mayor que el anti-B, siendo más elevadas las anti-A del grupo O que las del grupo B, y las del anti-B mayor en el grupo A que en el O.

La formación de estos anticuerpos naturales continúa discutién

dose en la actualidad; una de las hipótesis más generalizadas es que se adquieren durante la vida embrionaria por sensibilización a través de antígenos, de especificidad próxima a las sustancias A y B, contenidas en los alimentos que provee la madre al feto; de no ser así, habría una aparente contradicción en la definición de anticuerpos; lo cierto, es que son globulinas cuya síntesis está dirigida genéticamente, como todas las proteínas del individuo, por el D.N.A. - Desde luego las opiniones sobre el origen de los anticuerpos naturales anti-A y anti-B se implantan en dos doctrinas extremas; la consecuente a una inmunización por sustancias A y B del medio ambiente y la genética. SPRINGER, HORTON y FORBES, apoyándose en trabajos de DUPONT (1.934) se inclinan por la hipótesis primera en virtud de la experiencia siguiente: los pollitos blancos de raza Leghorn a las pocas semanas de nacimiento contienen en los eritrocitos una aglutinina anti-B; en cambio si los pollitos han sido incubados y conservados en medio estéril no producen esa aglutinina, pero basta que se añada a su dieta la escherichia coli 0 para que la produzcan en gran cantidad.

SCHIFF y ADELSBERGER admiten la existencia, en pequeñas cantidades, de unas isorreaginas A para el grupo B y B para el grupo A, que mantendrían la formación de los anticuerpos anti-A y anti-B, respectivamente.

Las teorías de BERNSTEIN están basadas en la producción simultánea de anti-A y anti-B en todos los individuos, pero los poseedores de los antígenos A o B absorberían la aglutinina anti-A o anti-B, respectivamente; es la teoría de la "autoabsorción".

En la concepción de BURNET, el organismo formaría normalmente todos los tipos de anticuerpos en pequeñas cuantías y la función del antígeno sería la de estimular la división de las células inmunológicamente competentes, correspondientes a la formación de un anticuerpo determinado; es la teoría de la selección clonal según la cual cada persona tendría la particularidad de formar ciertos anticuerpos desde el mismo momento del nacimiento e incluso antes de él.

FURUHATA cree que los anticuerpos se forman por la acción de unos genes.

RACE y SANGER se inclinan por la teoría genética y del medio ambiente; basándose en trabajos de WURMSERS sobre las diferencias físicoquímicas entre el anti-B producido por las personas de grupo A, A, A₁O y OO y los cambios observados en el antígeno A por personas afectas de leucemia, sugieren que el anticuerpo terminado no está bajo el control genético completo y directo, pero sí que el aparato que hace los anticuerpos refleja el estado, que puede ser transitorio, de los antígenos con los que se enfrenta.

De cualquier modo, parece que la capacidad de un individuo para formar anticuerpos viene dada genéticamente en sus cromosomas, existiendo en principio una pluripotencia; el antígeno lo que haría sería estimular la producción de un anticuerpo en sentido determinado, originándose simultáneamente una represión para que ese grupo celular no formase otro anticuerpo diferente.

Las características comunes de los anticuerpos naturales del sistema ABO son (ver cuadro II):

- reaccionan mejor a temperaturas de $\pm 4^{\circ}$ C. que a 37° C. y son activos en solución salina; por ello se llaman fríos y salinos.
- son destruidos por calentamiento a 70° C. durante 10 minutos y por 2-mercaptoetanol y pueden ser neutralizados totalmente por las sustancias A o B WITEBSKY.
- ? - carecen de actividad hemolítica en presencia de complemento.
- son aglutininas "completas", capaces de provocar directamente, en medio salino, aglutinación de los hematies correspondientes.
- producen sensibilización directa de los hematies.

- tienen un peso molecular de 900.000 a 1.000.000
- su constante de sedimentación es de 19 S. y no atraviesan la barrera placentaria (macroanticuerpos).
- también se llaman inmunes precoces por ser los primeros en formarse en los cuadros de inmunización.
- su modo de reaccionar, según los estudios termodinámicos aplicados por SALMON a los anti-A y anti-B, varía incluso en función del genotipo del individuo, siendo diferentes si se trata, por caso, de un anti-B de una persona de grupo O, A_1 ó A_2 y también las de un AA de las de un AO.

El anticuerpo anti-A es en verdad una mezcla de anti-A y anti- A_1 ; si absorbemos este anticuerpo con hematies A_1 todos los anticuerpos son suprimidos, pero si la absorción la realizamos con hematies A_2 sólo suprimiremos el anticuerpo Anti-A pero no el anti- A_1 .

En ciertos sujetos de grupo A_2 y sobre todo de grupo A_2B existe el anticuerpo natural anti- A_1 , el cual asimismo se ha aislado, de forma inconstante, también en individuos de grupo A_x . Su título es generalmente débil.

En las personas de grupo O se encuentra el anticuerpo anti-A +B, y desde luego este anticuerpo no puede ser considerado como suma de anti-A y anti-B de personas de grupos B y A; en efecto, si con hematies de grupo A hacemos una fijación-elución en un suero de grupo O la elución quebranta por igual la actividad de anti-A y anti-B. Este antisuero es de gran utilidad práctica pues sirve para poner de manifiesto formas débiles de A y B y para confirmar los resultados de las pruebas realizadas con anti-A y anti-B. Para explicar este modelo de anticuerpo anti-A +B se han invocado tres hipótesis:

- 1) KOECKERT, en 1.920, dice que habría un tercer anticuerpo, además del anti-A y anti-B, llamado anti-C, presente en el suero O y que todas las personas A, B y AB poseen en sus eritrocitos el correspondiente antígeno C; esta hipótesis fué también sostenida por WIENER.

- 2) DODD y BIRD suponen que algunas moléculas sencillas - de anticuerpos en suero de grupo O, están dotadas de doble especificidad, anti-A y anti-B, y por lo tanto dichas moléculas antigénicas pueden reaccionar con las células A y células B.

- 3) KABAT plantea la tercera posibilidad apuntando que las sustancias A, B y O tienen una estructura química muy próxima y que los sujetos O podrían formar ciertas porciones anti-A y anti-B, cuya especificidad no estaría dirigida directamente contra los grupos A y B, sino contra determinadas porciones de la molécula que involucrarían estructuras comunes a las sustancias A y B, es decir, se combinarían con zonas más extensas que los específicos anti-A y anti-B, de tal manera que afecta a una parcela común a los dos antígenos A y B, o dicho de otro modo los anticuerpos de sujetos de grupo O son anticuerpos mal adaptados, capaces de reconocer a la vez a los antígenos A y B.

En otro lugar expondremos el mecanismo genético de formación de los antígenos; adelantemos, empero, que la cantidad de sustancia o aglutinógeno H está en los hematies en razón inversamente proporcional a la cuantía en anticuerpo anti-H presente en el suero (ver figura VI). Es por ello por lo que el anti-H se puede evidenciar fundamentalmente en determinados sujetos A_1 y A_1B y excepcionalmente en los fenotipos Bombay y aglutinar fuertemente los hematies de grupo O y A_2 ; se trata de un anticuerpo frío, de temperatura óptima a 4° C. e incompleto, pero que puede hallarse

de forma natural en algunas personas; sólo puede aislarse en presencia de complemento y puede ser neutralizado por la sustancia H de la saliva; ésta circunstancia última es precisamente la que le distingue del llamado anticuerpo anti-O; es decir, el anti-O es un anticuerpo - muy raro, irregular y natural, de comportamiento idéntico al anti-H, frío y completo y por lo tanto muy activo frente a hematias de grupo O y A₂.

De igual forma que en otros sistemas de grupo sanguíneo, en el sistema ABO pueden crearse anticuerpos inmunes, de naturaleza generalmente Ig.G, con todas las características de éstos; aparecen tras procesos de isoinmunización o heteroinmunización; en el primer caso son responsables de su creación un embarazo con feto incompatible o bien una transfusión de sangre incompatible; pero también puede ser consecuencia de heteroinmunización resultante de una estimulación antigénica de origen animal o vegetal de estructura química muy próxima a la de los antígenos de grupo sanguíneo y así - pueden surgir tras una vacunación o administración de sueros y más frecuentemente por sustancias microbianas de estructura parecida.

Los anticuerpos que hemos descrito pueden también localizarse en plantas o animales; ahora bien, es preciso aclarar que la estructura química de estas sustancias es igual o similar a la de los anticuerpos mencionados, pero su comportamiento serológico nos permite cualificarlos como aglutininas específicas de ciertos antígenos. Así, las llamadas fitoaglutininas, presentes en algunas bacterias y virus y extractos de semillas vegetales son generalmente proteínas o mucoproteínas y muchas de ellas reaccionan con todos los hematias (aglutinación inespecífica), pero otras son de aglutinaciones específicas y por ello llamadas lectinas por W.C. BOYD, en 1.954; este término quizá sea el más afortunado pues con él se da a entender que son aglutininas vegetales con especificidad de grupo sanguíneo, pero no anticuerpos, toda vez que parece ser que el mecanismo de reacción es más bien casual y no debido a una estimulación antigénica específica; estas lectinas son:

- lectina anti- A_1 : se ha encontrado en diversas plantas, tales como *Vicia craca*, en 1.948 (RENKONEN), *Phaseolus limensis*, en 1.949 (BOYD y REGUERA), etc.; pero la más útil de todas ellas es la obtenida, en 1.952, por BIRD en la *Dolichus biflorus* que tiene gran avidez por las células A_1 y A_1B , reaccionando débilmente con las A_2 y A_2B y nunca con las O ó B; es muy eficaz en casos de "quimeras" para separar los hematies A_1 en las mezclas con O y A_1 .

- lectina anti-B: los casos que se han aislado son de menor espectacularidad que las referidas para anti- A_1 ; anti-B específico se ha encontrado en los extractos de los hongos *Fomes fomentarius* y de *Marasmius oreades*; en semillas del género *Bandeiraea simplicifolia* pueden hallarse aglutininas específicas anti-A y anti-B, según las semillas sean frescas o de recolección superior al año, respectivamente.

- lectina anti-A + B: es una aglutinina de actividad similar a los anticuerpos anti-A + B de determinados sujetos de grupo O, es decir, reacciona con algunos componentes antigénicos comunes a las células A y B; se han descrito en la *Sophora japónica*, *Crotolaria striata*, *Calpurnia aurea* y *Crotolaria mucronata*.

- lectina anti-H: derivada de la semilla *Ulex europeus*, es de gran utilidad para diferenciar entre sí los subgrupos de A, de suerte que los hematies de grupo O y subgrupos A_2 y A_2B , son más enérgicamente aglutinados que los del tipo A_1 y A_1B , no aglutinando incluso a éstos últimos. De menor interés práctico se han detectado lectinas anti-H en semillas de *Cytisus sesilifolius*, *Lotus tetragonolobus*, *Laburnum alpinum*, etc.

- lectinas inespecíficas: BIRD piensa que el extracto de *Ricinus communis* y el de *Abrus precatorius* reaccionan con el sistema básico común al ABH y a la sustancia Le^a .

Los anticuerpos específicos de origen animal son de diversa procedencia; así, se obtiene anti-B del caviar de salón, anti-A de extractos de mantequilla de almeja (*Saxidomus giganteus*) y de extractos de los caracoles *Helix aspersa*, *Helix hortensis*, *Helix pomatia*, *Otala lactea* y *Cepaea nemorales*. El de más interés es el *Helix hortensis*, caracol de jardín, cuyo "anticuerpo" aglutina los hematies A_1 , A_2 , A_1B y A_2B , pero no los de grupo O ó B y dado que la fuerza de reacción es la misma con A_1 que con A_2 , PROKOP y colbs. concluyen que éste anti-A está demostrando la existencia de un nuevo grupo sanguíneo en el hombre: A_{hel} .

Grupos, Subgrupos y variantes del sistema ABO.

En definitiva, la combinación de los antígenos y anticuerpos naturales referidos dán lugar a la formación de cuatro grupos sanguíneos principales y otros múltiples, si consideramos los subgrupos, a saber:

- Grupo A: constituido por el aglutinógeno A, presente en los eritrocitos y la aglutinina anti-B (β) en el suero, restos de sustancia H en cantidad diferente según la variedad antigénica y sustancia fundamental A (en los secretores). Se admiten varios subgrupos que posteriormente comentaremos. Las personas incluidas en este grupo pueden recibir sangre isogrupo ó del O y donar sangre a los grupos A y AB.

- Grupo B: Lo componen el aglutinógeno B en los hematies y el anticuerpo anti-A (α) en el suero, restos de sustancia H y en los secretores sustancia fundamental B; teóricamente se admiten varios subgrupos que carecen de importancia clínica. Pueden recibir sangre de grupo O y ceder a los grupos B y AB.

- Grupo O: Está configurado por la sustancia H, no transformada y las aglutininas anti-A y anti-B (recuérdese lo comentado en el apartado anterior) en el suero; en principio, al creer que carecía de antígeno eritrocitario, se le llamó "cero" y después se le ha denominado por la letra O para dar a entender que sus hematies poseen el antígeno o sustancia H, de aquí que algunos autores hablen de sistema ABH. Se aceptan, entre otras, las variantes O^h y O_h (Bombay). Se puede decir que es el filántropo del sistema e impropriamente "donante universal", pues si bien se puede transfundir a cualquier persona no puede recibir sangre que no sea O.

- Grupo AB: Por contra este grupo tiene los antígenos A y B en sus hematies y ningún anticuerpo en suero; por lo mismo, sería "receptor universal"; sólo se puede transfundir a personas del grupo AB; en los hematies hay trazas de sustancia H. Hay múltiples variantes del mismo, tantas como combinaciones pueden hacerse con las variantes A y B juntos.

Pero el sistema ABO se amplía y complica notablemente con el descubrimiento de múltiples subgrupos; ciertamente, la presencia de una glutinógeno en los hematies es fácil de comprobar, sin embargo, no pocas veces se aprecian diferentes grados de reactividad de las sangres de varios individuos frente a un mismo antisuero. Así, si tomamos eritrocitos tipo A y AB como hicieron Von DUNGERN y HIRSZFELD (1911), de distintas personas y se confronta a un mismo anti-A, se verá que unos eritrocitos son aglutinados fuertemente, en tanto otros apenas se aglutinan; aquellos fueron llamados, por los referidos autores, A_1 o A fuerte y éstos A_2 ó A débiles; esta hipótesis fué admitida por LANDSTEINER y WITT (1.926). Se empezó desde entonces a sospechar la existencia de

ciertas diferencias cualitativas entre los aglutinógenos del grupo A; más tarde, LOTTER y CAVARRUTI señalaron que estas diferencias eran cuantitativas, es decir, que los hematies de tipo A_1 tenían mayor cuantía de antígeno A que los del tipo A_2 . Por fortuna pronto - se supo que en el suero del grupo B hay mezcla de aglutininas, anti-A y anti- A_1 , separables por absorción, de suerte que si, como ya se ha comentado, absorbemos con hematies A todos los anticuerpos serán anulados, pero si la absorción la hacemos con hematies A_2 , sólo quedará el anti- A_1 ; en consecuencia, el anticuerpo anti-A aglutina todas las variantes del grupo A, pero más débilmente las A_2 , en tanto la aglutinina anti- A_1 aglutina únicamente la variedad A fuerte (A_1).

Uteriormente veremos el importante papel que en el desarrollo y formación de estos antígenos juega la sustancia H.

En 1.935, FISCHER, HANH y FRIEDENREICH encontraron - un antígeno A tan débil de expresión que no era captado por varios sueros de grupo B y lo denominaron A_3 . Las características especiales de esta variedad y las restantes pasamos seguidamente a exponerlas:

Subgrupos de A: (ver cuadro VII)

1) Subgrupo A_1 : Se dá en una frecuencia del 80 % aproximadamente, en las personas de grupo A. Los eritrocitos de este tipo absorben totalmente la actividad del anti- A_1 de sujetos de grupo B u O; nunca son aglutinados por anti-H; en su suero tienen anti-B natural y de forma inconstante y también natural - anti-H. HIRSZFELD distinguía dentro del A_1 los grados A_c , A_g , A_j y A_m según su riqueza en sustancia A.

2) Subgrupo A_2 : Representa el 20 % de las personas de grupo A. Estos hematies son aglutinados débilmente por anti-A de grupo B u O y por sustancia anti-H; en su suero hay anti-B natural y de forma inconstante y natural, en el 1 a 2 % de

CARACTERISTICAS DE LOS FENOTIPOS ABO

FENOTIPOS	Reacción de los hematíes con los sueros testigos					Sueros con hematíes testigos			Sustancias A, B, y H en la saliva			FRECUENCIA
	Anti-A	Anti-A ₁	Anti-B	Anti-A+B	Anti-H	A ₁	B	O	A	B	H	
A ₁	+++	++	-	+++	-	-	+++	($\bar{+}$)	++	-	++	36 %
A _{int}	++	+	-	+++	++	-	+++	-	++	-	++	Raro
A ₂	++	-	-	+++	+	($\bar{+}$)	+++	-	++	-	++	9 %
A ₃	$\bar{+}$	-	-	++	++	$\bar{+}$	+++	-	++	-	++	1/2000
A _{bantu}	$\bar{+}$	-	-	++	++	+	+++	-	-	-	++	Excepcio- nal
A _{end}	$\bar{+}$	-	-	+	+++	-	+++	-	-	-	++	Excepcio- nal
A _x	-	-	-	$\bar{+}$	+++	+	+++	-	-	-	++	1/40.000
A _m	-	-	-	---	+++	-	+++	-	++	-	++	Excepcio- nal
A _{e1}	-	-	-	-	+++	-	+++	-	-	-	++	Excepcio- nal
A _h	-	-	-	-	-	-	+++	+	+	-	++	Excepcio- nal
O	-	-	-	-	+++	+++	+++	-	-	-	++	43 %
O _h	-	-	-	-	-	+++	+++	$\bar{+}$	-	-	++	Excepcio- nal
Bombay (O _h)	-	-	-	-	-	+++	+++	++	-	-	-	Excepcio- nal
B	-	-	+++	+++	-	+++	-	-	-	++	++	9 %
B débi- les	1	-	-	$\bar{+}$	$\bar{+}$	++	+++	+	-	-	++	Muy raros
	2	-	-	$\bar{+}$	$\bar{+}$	++	+++	-	-	-	++	
	3	-	-	$\bar{+}$	$\bar{+}$	++	+++	-	-	-	++	
B _m	-	-	-	-	+++	++	-	-	-	++	++	Muy raro
B _h	-	-	-	-	-	+++	-	$\bar{+}$	-	++	++	Excepcio- nal
A ₁ B	+++	++	+++	+++	---	-	-	($\bar{+}$)	++	++	++	2,3 %
A ₂ B	++	-	+++	+++	++	($\bar{+}$)	-	-	++	++	++	0,7 %
cisA ₁ B	++	++	+	+++	-	-	+	-	++	+	++	Excepcio- nal
cisA ₂ B	+	-	+	+++	++	-	+	-	++	+	++	Excepcio- nal

Cuadro VII

los casos, poseen anti- A_1 . Algunos autores consideran como formas débiles de A_2 a los A_3 , A_4 y A_5 , lo cual no deja de ser aceptable pues en verdad son grados decrecientes de poder antigénico A_2 .

3) Subgrupo A_{1-2} ($A_{int.}$): Esta variedad, intermedia entre el A_1 y A_2 en cuanto a su reacción con anti-A la evidenciaron LANDSTEINER y LEVINE, en 1.930; parece ser más común en negros que en la raza blanca. Son más ricos en sustancia H que los A_2 y por ello reaccionan más fuertemente con anti-H y son aglutinados con menor intensidad por anti- A_1 que los del subgrupo A_1 .

4) Subgrupos o variantes débiles de A: Incluimos aquí subgrupos de A de comportamiento diferente con sueros testigos anti- A_1 , anti-A, anti-B y anti-H y siempre en función de su cuantía en sustancia H, para su perfecta definición precisamos además del empleo de hematies A_1 , A_2 , B y O (prueba inversa), del estudio de presencia de sustancia fundamental en la saliva de los secretores.

4-1) Fenotipo A_3 : Es una variedad débil de A que corresponde genéticamente a un gen autónomo A_3 ; según GAMMELGAARD este gen es un alelo en la posición $A_1 A_2 BO$. Para COTTERMAN los hematies A_3 serían un mosaico de A_2 y O, como consecuencia de una mutación controlada del gen; sin embargo, esto no parece ser cierto y así lo demuestran las observaciones de DUNDSFORD en el sentido de que los sueros del grupo O (anti-A+B) aglutinan todas las células de las personas de genotipo $A_3 O$. SIMON y PROKOP han descrito un caso de una familia con A_3 débil (A_3^W). Las aglutininas anti-A de sujetos B aglutinan parcialmente estos hematies, dando una imagen de "doble población", esto es, unos hematies son aglutinados y otros no, si separamos los hematies no aglutinados y nuevamente los sometemos a la acción de anti-A se observará también la "doble población"; así podremos repetir la operación -

hasta que todos los hematies sean aglutinados. En su suero es frecuente encontrar anti- A_1 . En la saliva de sujetos A_3 secretores, la sustancia A se encuentra en cantidad inferior a la hallada en los A_1 y A_2 ; en cambio en sus hematies hay más sustancia H que en estos subgrupos. Su frecuencia es del orden de 1 a 2.000 en sujetos A.

4-2) Fenotipo A_x : Son hematies poco o nada aglutinados por anticuerpos anti-A de sujetos B; tampoco aglutinan con anti- A_1 ; con anti-A de persona O la aglutinación es parcial; con anti-H aglutinan fuertemente pues sus hematies son ricos en sustancia H, si son secretores. En su suero hay frecuentemente anti-A, capaz de aglutinar a la vez eritrocitos A_1 y A_2 . Su incidencia es muy baja: 1 a 40.000 por cada sujeto A. En el fenotipo A_x , descrito por FISHER y HANH, en 1.935, RACE y SANGER incluyen, desde 1.957, el complejo A_4 , A_5 , A_6 , A_0 y A_z . La expresión de este fenotipo puede variar aún dentro de un grupo familiar portador de estos antígenos.

4-3) Fenotipo A_m : Estos hematies ya no son aglutinados por anti-A ni anti-AB y sí fuertemente por sustancia H; es decir, su comportamiento serológico es de un O; en cambio, si fijan esos anticuerpos como puede probarse por una prueba de elución, lo cual es fundamental para su definición como variante de A. En su saliva hay sustancia A y H. La interpretación genética de este fenotipo hace intervenir un sistema de "genes inhibidores"; existirían un par de genes alelos, Y e y, que dirigen genéticamente la expresión del antígeno A eritrocitario, de modo que un individuo de genotipo A_m puede transmitir el gen A normal. "Y" es el gen frecuentemente habitual e "y" es el gen inhibidor, raro; entonces los sujetos A_m serían de genotipo excepcional "yy".

4-4) Otras variantes débiles de A: En 1.940, HIRSZFELD describió el A_4 ; el cual según RACE y SANGER sus eritrocitos absorben anti-A y para MARCUSSEN en su

suero, casi siempre, habría un anti-A atípico. Tiene una incidencia de 1 a 60.000.

En 1.942, GAMMELGARD citó el subgrupo A_5 que al no aglutinar con anti-A parecía un O, teniendo en su suero anti-B normal y anti-A débil.

En 1.948, JONSON y FAST, refieren la variante A_6 .

En 1.952, GOVE-RASMUSSEN y colbs. citan el A_0 .

En 1.959, WIENER, RACE y SANGER descubren el A_{end} . Esta variante recuerda al A_x y A_m , pero se diferencia de ellos en que aglutina con anti-AB claramente y con anti-A débilmente; su saliva contiene H pero no A.

En 1.964, STURGEON y colbs. describen el A_{el} ; su saliva tiene H pero no A; sus características serológicas se pueden contemplar en el cuadro VII.

En 1.966, BRAIN, encuentra la variante A_{bantu} en el 4 % de africanos de raza bantú; sus características se ven en el cuadro VII.

El fenotipo A^h , que no debe confundirse con el teórico A_h (Bombay), se comporta frente a anti-A como el A_m pero no aglutina con anti-H pues carece de antígeno H demostrable; en su suero contiene anti-B. En los secretores las sustancias A y H están presentes en la saliva en cantidad normal.

Subgrupos de B: (ver cuadro VII).

Han sido menos estudiados que los subgrupos de A, pues en verdad tienen un interés práctico nulo.

De las formas débiles de B, en cierto modo comparables a las de A, se han descrito:

- B_w : incluye los subgrupos de B_1 y B_2 .
- B_x o B_m : análogos a los eritrocitos A_m .
- B_3 : de reacción similar a los A_3 .

Estos hematies tienen la característica serológica común de reaccionar con la sustancia H más intensamente que los B normales y absorben menor cantidad de anti-B que los eritrocitos B normales o fuertes.

Otros autores usan diferente nomenclatura y así el B_{100} sería el B normal y las formas débiles estarían referidas a B_{80} , B_{60} y B_0 .

El fenotipo B^h , que tampoco debe confundirse con el B_h (Bombay), tiene de interés el no tener antígeno B ni H; en su suero hay anti-H débil y en su saliva sustancias hidrosolubles B y H que hacen comparable este fenotipo a los A^h ó O^h .

El primero que subdividió los antígenos B en B_1 y B_2 fué MOSKOW, en 1.935.

En 1.955 MOULEC y cols. descubren el tipo B_3 y dentro de este subgrupo ALTER y ROSENFELD, en 1.964, incluyen la variante B_x , hallada en una familia norteamericana; pero para otros autores este tipo sería equiparable al A_m .

LEVINE en 1.955 definió la variante B_w y en este mismo año en Finlandia, MAKALE y MAKALE refirieron un B_v .

Por lo tanto se observa poca claridad en la diferenciación de estos subgrupos y reiteramos su poca importancia práctica.

Subgrupos de O: (ver cuadro VII)

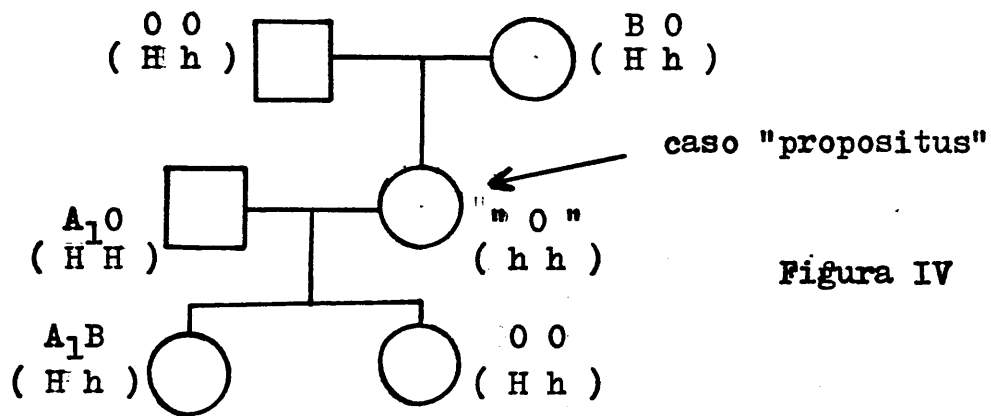
También en el grupo O se admiten una serie de subgrupos.

FURUHATA y MURAKAMI dividieron este grupo en los subgru-

grupos O_1 y O_2 de modo que el gen O_1 se comportaría como dominante de O_2 y sus frecuencias serían, en el pueblo japonés, del 20 % y 80 % respectivamente.

Más interesante es la descripción del fenotipo O^h , cuya característica es la de diferenciarse del grupo O normal en que sus eritrocitos se aglutinan con sustancia anti-H; en lo demás es idéntico al O normal, si exceptuamos la presencia de éstos últimos de sustancia H, esto es, no contienen ningún antígeno y su suero posee las aglutininas anti-A y anti-B. El O^h se distingue a su vez del O_h (Bombay) en que en éstos la sustancia H no es secretada por la saliva y en el O^h sí.

La variante más conocida del grupo O es la llamada fenotipo o carácter O_h (Bombay), cuya explicación exige la presencia de los genes Hh; se trata de un grupo excepcional descrito por BHENDE, en 1.952, al estudiar dos enfermos indígenas de Bombay (India) que necesitaban una transfusión y eran del grupo O, posteriormente se han encontrado cerca de 30 casos nuevos en diferentes partes del mundo; son sujetos que fenotípicamente se comportan como del grupo O, pero en tanto los hematies de grupo O normal reaccionan fuertemente con sustancia anti-H, por ser ricos en sustancia H, los hematies con carácter Bombay contienen en su suero anti-A, anti-B y anti-H pero en sus eritrocitos no hay sustancia H; todo ello justifica porque son sujetos con ausencia del gen común "H" (ver figura V), es decir, tienen un "h" en estado homocigoto y al carecer este gen de capacidad transformativa del glucolípido precursor en sustancia H, quedaría el mismo inalterado, permaneciendo el gen de grupo sanguíneo "oculto"; por lo mismo su fenotipo es O pero su genotipo puede ser A, B e incluso O. Para explicar su genética tomaremos el caso de una mujer del grupo O, casada con un hombre del grupo A_1 , que tuvo una hija del grupo A_B :



Por razones obvias pueden describirse fenotipos "Bombay" - con genotipo A_h y B_h .

Fenotipo Cis AB: (ver cuadro VII)

Se caracterizan estos hematies por la asociación de antígeno A_1 o A_2 débil y antígeno B parcial a la vez en sus hematies y saliva; el suero contiene un anti-B parcial. Genéticamente llama la atención la presencia en un solo cromosoma de genes A y B débiles en posición "cis".

Concepto de "donante universal".

Como es sabido la sangre del grupo sanguíneo O puede emplearse, en principio, para cualquier receptor; de aquí el nombre de "donante universal" que recibe el dador de dicho grupo.

Sin embargo, dejemos constancia, como primera premisa, de que este donante, en el exacto significado de la palabra, no existe; con acierto se ha anunciado que no hay dos sujetos con genética de grupo sanguíneo igual. Pero aún se continúa diciendo que el grupo O es el donante universal, en tanto el AB sería el receptor universal. Ello no deja de tener su fundamento y prueba de ello es que los Bancos de Sangre, en ocasiones señaladas, se ven precisados a hacer transfusiones heterogrupo siguiendo esta normativa. No obstante, ello conlleva un riesgo potencial si las circunstancias de transfusión no fueron bien analizadas; de hecho nosotros hemos tenido oportunidad de vivir situaciones desagradables cuando en graves accidentes y forzados por la urgencia vital del caso, hicimos la indicación de transfusión inmediata sin determinación previa de grupo sanguíneo en el paciente.

Una buena Hemoterapia exige la transfusión isogrupo, cuando no sea posible, el donador deberá estar calificado como "donante - universal" verdadero. Ciertamente que el grupo O puede ser inyectado a sujetos A, B o AB puesto que sus hematies al carecer de antígenos A y B, son invulnerables a los anticuerpos anti-A y anti-B del receptor, pero además de esto son precisas otras condiciones que pasamos a detallar; a fin de evitar repeticiones sobre este tema, cuando desarrollemos el capítulo del sistema sanguíneo Rh, trataremos conjuntamente en el concepto de "donante universal" los sistemas sanguíneos ABO y Rh.

a) Antígenos: Todo sistema de grupo sanguíneo viene definido por una serie de antígenos, los cuales al ser administrados a receptores desprovistos de ellos pueden provocar de primera (caso del sistema ABO) o de segunda intención (caso del sistema Rh) una reacción antígeno-anticuerpo con crisis hemolítica más o menos severa. Por eso el grupo O es "ideal" para casos de urgencia, pero de lo expuesto se infiere que también debemos valorar el sistema Rh; por ejemplo, una transfusión de sangre de genotipo O - CDE/cde a un paciente de genotipo A₁ - CdE/Cde, puede crear isoinmunización a los antígenos D, E ó c. Si concretamos que en la práctica transfusional son los sistemas ABO y Rh los verdaderamente conflictivos y secundariamente los restantes sistemas (y a la cabeza de ellos los antígenos del sistema Kell), llegamos a la conclusión de que la transfusión debe ser hecha tal como se ha expuesto, y dado que los antígenos "c" y "e" tienen relativamente poca capacidad de sensibilización, el donante universal será O -Rh negativo homocigótico (cde / cde). Finalmente, desvelemos que el orden decreciente de frecuencia de sensibilización observadas a estos antígenos es: D, c, E, C, e, C^w, con las siguientes frecuencias: D: 90-95 %; c : 2-3%; C, E y e: 2-3 %.

b) Anticuerpos naturales: (Ig-M; 19 S): La sangre O - Rh negativa puede ser potencialmente peligrosa si contiene un título elevado de aglutininas salinas anti-A y/o anti-B; estos anticuerpos son

diluidos en la sangre del organismo receptor e inmediatamente neutralizados por sus correspondientes haptenos; ^{cuando el receptor no es secutor o} cuando el título de anticuerpos es muy elevado y el volumen de sangre transfundida es pequeño, el peligro crece al aumentar los anticuerpos y disminuir la dilución en el receptor. Será, pues, ésta, otra condición para definir el donante universal.

c) Anticuerpos inmunes (Ig.G; 7 S): Sólo están presentes en personas inmunizadas a determinados antígenos y los ponemos de manifiesto con ayuda de la prueba de Coombs indirecta (ver capítulo X.) La sangre de un donante, por ejemplo, O - cde/cde, con anticuerpo anti-D en su plasma, sólo puede ponerse a un receptor iso-Rh₀ que en el Rh₀ (D) positivo puede crear un accidente transfusional si su título de anticuerpos inmunes es alto.

d) Hemolisinas: También pueden ocasionar problemas transfusionales cuando empleamos a tal fin "sangre fresca", es decir, rica en complemento, ya que las hemolisinas destruyen el hematie en presencia del complemento.

De todo lo descrito deducimos que para calificar a un donante del grupo O - Rh negativo homocigoto como "donante universal" son necesarias las condiciones siguientes:

- 1 - aglutininas naturales de título inferior a 1/64.
- 2 - aglutininas inmunes de título inferior a 1/20.
- 3 - hemolisinas de título inferior a 1/1.

Reunir estos requisitos en una sangre es poco frecuente; nosotros en un trabajo desarrollado sobre el tema de "donante universal" y que expondremos en detalle en el apartado de "nuestra casuística", hallamos que sólo el 0,22 % de los hemodonadores de grupo sanguíneo O eran "donantes universales".

Cuando hablemos del sistema Kell, veremos que los antígenos de este sistema y sobre todo el K son de alto poder inmunizante (1 %), pero menos que los del sistema Rh; por lo tanto el concepto de "donante universal" puede ser más limitado. Terminemos diciendo que - si trajéramos al escenario de este estudio los restantes sistemas sanguíneos con poder sensibilizante, la limitación del concepto sería tal que refrendaríamos la frase ya citada de "no hay dos sujetos de genética sanguínea igual".

Genética y herencia en el sistema ABO. -

Las características genéticas del sistema ABO vienen dadas - por dos genes alelomorfos situados en los locus correspondientes de un par de cromosomas, uno perteneciente a la madre y otro al padre. Esta heredabilidad ya fué sospechada por EPSTEIN y OTTENBERG, en 1.908; Von DUNGERN y HIRSCHFELD, en 1.910, apuntaron la posibilidad de dos pares de genes independientes entre sí, A y a y B y b, de modo que A y B serían dominantes frente a los genes a y b y de esta forma un progenitor AaBb, de fenotipo AB, podría tener un hijo de genotipo aabb, ésto es, de fenotipo O. Esta teoría fué posteriormente desplazada por la del matemático BERNSTEIN, según la cual existen tres genes, a los que llamó A (p), B (q) y O (r) que dirigen la herencia conforme el modelo de alelos múltiples; - estos genes, de acuerdo con la nomenclatura anglo-americana son I^A , I^B e I^O y ocuparían un solo locus dentro de cada cromosoma y cualquiera de los tres genes podría estar en ese locus; este tipo de herencia en el que hay más de un par de alelos para los dos locus de ambos cromosomas se conoce, como decíamos, con el nombre de alelismo múltiple y es muy corriente en la genética de grupos sanguíneos.

La diferencia, pues, entre las dos tesis expuestas, está en que para Von DUNGERN un progenitor AB puede tener descendientes O y para BERNSTEIN ello no es factible; ésta última teoría es la generalmente admitida hoy día como más verosímil y sobre esta cuestión volveremos más adelante.

Pero, como ya demostraron LANDSTEINER y LEVINE, también se heredan los subgrupos y para explicar esta eventualidad THOMSEN, FRIEDENREICH y WORSAAE modificaron la teoría de BERBSTEIN de modo que no serían tres sino cuatro los genes alelos I_1^A , I_2^A , I^B e I^O pero si consideramos los múltiples subgrupos de A, descritos en el apartado anterior, el número de genes alelomorfos sería mucho más elevado. No obstante, parece ser más razonable suponer los tres genes primarios como únicos exponentes genéticos y los diferentes subgrupos como variaciones del producto antigénico, conforme su cuantía en sustancia H, que surge por la acción de los genes A, B u O sobre la sustancia H.

Lo primero que interesa aclarar es el porqué de la existencia de los llamados subgrupos o variantes débiles y para justificar los mismos es necesario recordar la formación de los antígenos del sistema ABO. En el locus se sintetizan las sustancias específicas que actuarán sobre un precursor, glucolípido, contenido por cierto en la cápsula de neumococo XIV, añadiendo una molécula de azúcar, transformándole en sustancia antigénica H y ulteriormente ésta se transformará a su vez, por la acción genética que veremos, en los antígenos A y B respectivamente. Esas enzimas o sustancias específicas son:

- galactosamina-transferasa para el grupo A.
- galactosa-transferasa para el grupo B.
- fucosa-transferasa para la sustancia H.

Hasta que BHENDE, en 1.952, descubrió el carácter o fenotipo Bombay, se admitió que cada gen produciría un antígeno y que no podría existir ninguno de ellos sin que estuviera el gen correspondiente.

Para explicar el carácter Bombay, CEPPELLINI emitió la hipótesis sobre los genes "frenadores" o "inhibidores", los cuales ejercían su influencia impidiendo la formación de las sustancias A, B y H. WATKINS y MORGAN invocaron la presencia de dos genes alelos, H y

h, que activarían el glucolípido precursor formado la sustancia H y a partir de ésta se fabricarían las sustancias A y B; es decir, la sustancia H sería la estructura química básica o aglutinógeno original en el sistema ABO; el gen H sería dominante sobre el h; los genotipos HH y Hh estarían capacitados para hacer la transformación del precursor en sustancia H, en tanto que el genotipo hh, muy infrecuente, formaría un "gen inhibidor" no alterando dicha sustancia H.

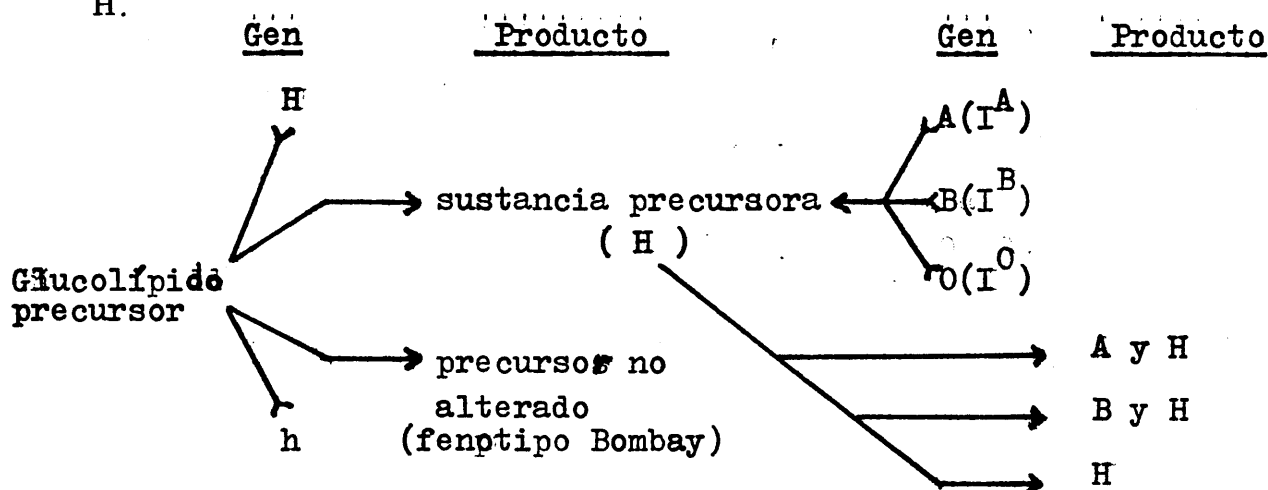


Figura V

Es decir, el gen H del par alélico HH ó Hh actuaría con sus enzimas específicas sobre el glucolípido precursor transformándolo en sustancia H; las enzimas sintetizadas por los genes A y/o B actuarían sobre la sustancia H convirtiéndola parcialmente en antígeno A y/o B; por ésto, en los grupos A y B hallamos antígenos A y B y restos de sustancia H; el gen O carece de esa capacidad transformativa y por ello tiene sólo sustancia H.

Precisamente la riqueza en sustancia H no alterada determina la variedad de los subgrupos de A y B (Figura VI); así, en los subgrupos débiles de A se habrá convertido en sustancia A poca cantidad de sustancia H, estando próximos al antígeno O, mientras que las formas más fuertes (A₁, A₁₋₂ y A₂) son ricas en sustancia A y pobres en sustancia H; la regla práctica pues, sería en el grupo A: a medida que disminuye su aglutinación con anti-A₁, aumenta con anti-H.

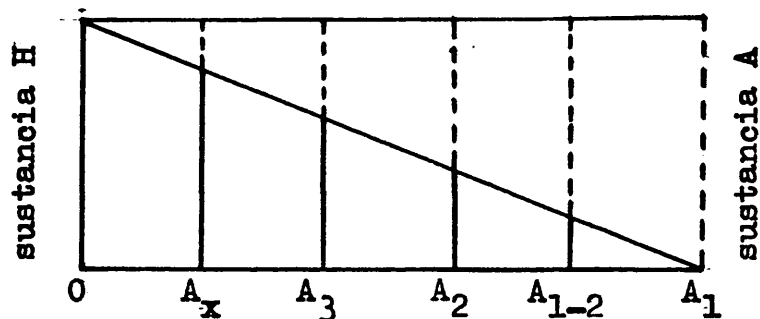


Figura VI

Así planteadas las cosas el fenotipo Bombay, referido en el apartado anterior, queda claramente justificado en su genética; en cuanto a las múltiples variantes antigénicas descritas, es necesario resaltar que ocupan el mismo locus cromosómico que aquel grupo antigénico al cual pertenecen y por ende sus diferencias serológicas son consecuencia de las distintas cantidades de sustancia H de que estén dotadas.

Ya escribíamos como para la explicación del subgrupo A_m se requería la presencia de los genes Y e y; WIENER y cols. observaron que "y" era "gen modificador" o "inhibidor" y en su forma homocigota, "y y", disminuía enérgicamente la aglutinabilidad e la cualidad A; el genotipo "y y", muy raro, carecería de influencia en la formación de los antígenos A y H y sería el responsable de la variante A_m .

La herencia se define en este sistema de manera que el gen O y su correspondiente antígeno O es recesivo respecto a los genes o antígenos A y B, de forma que estos son codominantes entre sí, o de otro modo dicho, para expresarse en el fenotipo el antígeno O es necesario que en el genotipo esté en doble dosis, esto es, sea homocigoto, en tanto que los antígenos A y B aparecen en el fenotipo aún estando presentes en el genotipo en dosis sencilla (Figura VII). Dentro de las variantes o subgrupos hay una dominancia de expresividad de las formas fuertes sobre las débiles, verbigracia, el A_1 es dominante respecto a A_2 .

En consecuencia, conocer el genotipo de los grupos sanguíneos A y B no es posible sin recurrir al estudio detallado de la familia; por el contrario, un individuo con el grupo O debe ser necesariamente homocigoto OO, o sea, tiene que haber heredado bilateralmen

COMBINACIONES POSIBLES DE LOS TRES ALEOMORFOS DE LOS GRUPOS ABO

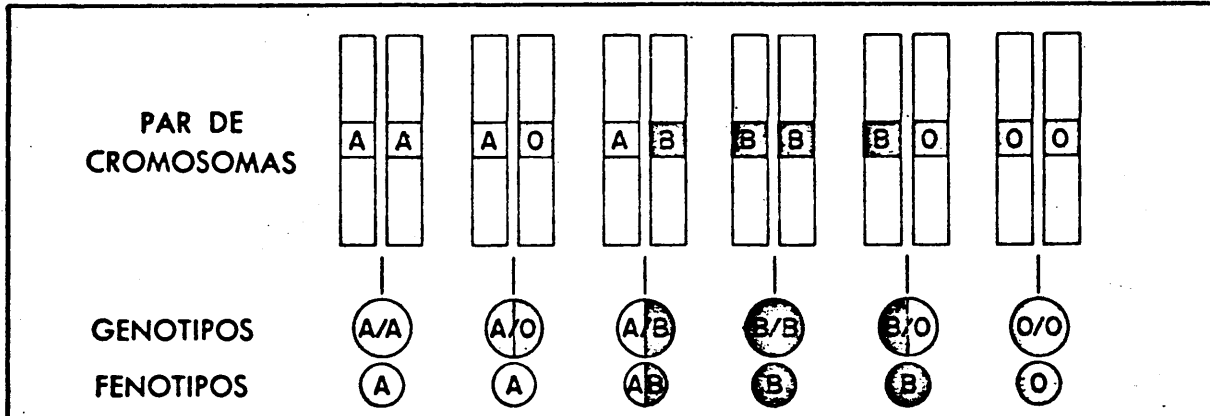
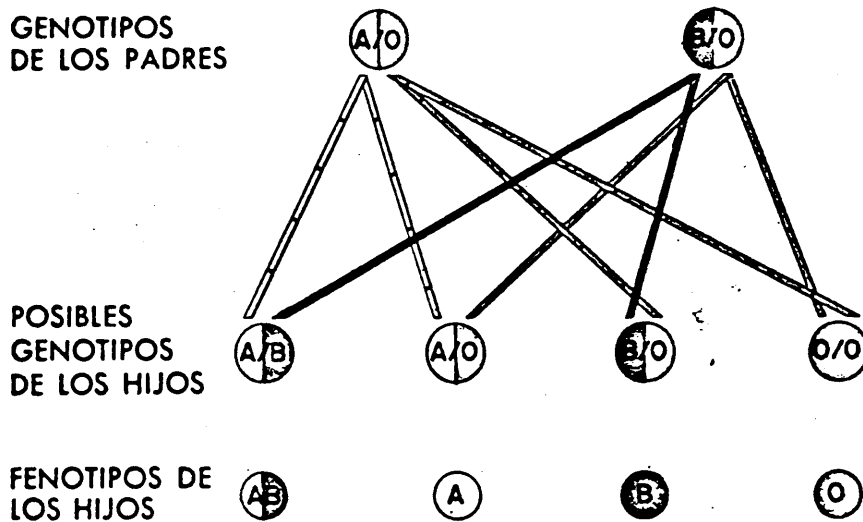


Figura VII

EJEMPLO DE LA DETERMINACION DE LOS GENOTIPOS ABO EN UN ESTUDIO FAMILIAR



te de la madre y del padre el gen O; por ello una persona de grupo sanguíneo O, salvo la excepción que luego comentaremos, no puede tener hijos con grupo AB, puesto que sin duda transmitirá el gen O a cada hijo y éste sólo puede recibir el A, B u O del otro cónyuge; de igual modo el fenotipo AB es expresión del genotipo AB.

Combinando los tres genes principales, A, B y O, el número de fenotipos posibles para el sistema ABO es de cuatro, pero estos pueden ser consecuencia de seis genotipos distintos:

<u>Genes formadores</u>	<u>Genotipos</u>	<u>Fenotipos</u>
p p ($I^A I^A$) ó p r ($I^A I^O$)	A A A O	 A
q q ($I^B I^B$) ó q r ($I^B I^O$)	B B B O	 B
p q ($I^A I^B$)	A B	A B
r r ($I^O I^O$)	O O	O

Cuadro VIII

Pero conforme la tésis emitida, en 1.930 , por THOMSEN, FRIEDENREICH y WORSAAE y según la cual, como dijimos al principio de este apartado, hay cuatro genes alelos, A_1 , A_2 , B y O, la combinación de los cuatro genes ocasionará seis fenotipos que a su vez pueden representar a diez genotipos:

<u>Génotipos</u>	<u>Fenotipos</u>
A_1A_1	
A_1A_2	A_1
A_1O	
A_2A_2	
A_2O	A_2
$B B$	
$B O$	B
A_1B	A_1B
A_2B	A_2B
$O O$	O

Cuadro IX

Veamos ahora cómo puede hacerse el cálculo de las frecuencias genéticas, a partir del cuadro VIII, considerando de momento sólo tres genes alelos; posteriormente haremos los cálculos con cuatro genes, es decir, con la inclusión del gen correspondiente a A_2 . Pero adelantemos que en 1.940 FISHER y TAYLOR consignaron "ciertos errores sistemáticos", no explicables, en el cálculo de frecuencias génicas, que afectaban en el porcentaje del grupo AB, si se aplicaba la fórmula de TAYLOR y PRIOR para el cálculo directo de la frecuencia génica de AB y por ello los estudios los realizamos sólo en los otros tres grupos sanguíneos.

Genes del padre				
p	q	r		
p^2	pq	pr	p	Genes de la madre
pq	q^2	qr	q	
pr	qr	r^2	r	

Para el grupo O su frecuencia sería = r^2

Para el grupo A:

$$\left. \begin{array}{l} A A = p^2 \\ A O = pr \end{array} \right\} = p^2 + 2pr$$

Para el grupo B:

$$\left. \begin{array}{l} B B = q^2 \\ B O = qr \end{array} \right\} = q^2 + 2qr$$

Para el grupo AB: = $2pq$

Cuadro X

Para el cálculo de frecuencias genotípicas seguimos las fórmulas de BERNSTEIN: \overline{A} , \overline{B} u \overline{O} muestran la proporción de la población en los diferentes grupos, ésto es, p = frecuencia del gen A; q = frecuencia del gen B, y r = frecuencia del gen O; tendremos que:

$$O + A = r^2 + 2pr + p^2 = (r + p)^2$$

$$O + B = r^2 + 2qr + q^2 = (r + q)^2,$$

pero como: $p + q + r = 1$, resulta que:

$$p + r = 1 - q, \text{ y}$$

$$q + r = 1 - p, \text{ de donde}$$

$$O + A = (1 - q)^2, \text{ y}$$

$$O + B = (1 - p)^2 \text{ y despejando q y p}$$

$$\begin{aligned} \text{tendremos: } p &= 1 - \sqrt{O + B} \\ q &= 1 - \sqrt{O + A} \\ r &= \sqrt{O} \end{aligned}$$

Realmente en la práctica $p + q + r$ no dán por resultado exactamente la unidad, por lo cual BERNSTEIN corrigió sus fórmulas, llamando D a la desviación de 1 y con ello pueden encontrarse mayores aproximaciones en las frecuencias:

$$\begin{aligned} p &= p' \left(1 + \frac{D}{2}\right) \\ q &= q' \left(1 + \frac{D}{2}\right) \\ r &= \left(r'' + \frac{D}{2}\right) \left(1 + \frac{D}{2}\right) \end{aligned}$$

siendo: $D = 1 - (p' + q' + r')$

y p y q = frecuencias aproximadas y

p' y q' = frecuencias obtenidas mediante las fórmulas anteriores.

No obstante lo citado, las fórmulas del método del profesor FISHER, publicadas por DOBSON e IKIN y por FRASER ROBERTS, son de mayor utilidad práctica, haciéndose el cálculo de genes de la forma que sigue:

$$p = \frac{t - s}{v}; \quad q = \frac{u - s}{v}; \quad r = \frac{s}{v}$$

donde: p = frecuencia del gen A

q = frecuencia del gen B

r = frecuencia del gen O

$$s = \sqrt{O}$$

$$t = \sqrt{O + A}$$

$$u = \sqrt{O + B}$$

$$v = t + u - s$$

significando: O = número total de individuos con el fenotipo O .
 y no su proporción (O); lo mismo para A y B.
 A = número total de individuos con el fenotipo A.
 B = número total de individuos con el fenotipo B.

con lo cual:

$$\text{Gen A} = p = \frac{t - s}{v} = \frac{\sqrt{O + A} - \sqrt{O}}{\sqrt{O + A} + \sqrt{O + B} - \sqrt{O}} \quad (1)$$

$$\text{Gen B} = q = \frac{u - s}{v} = \frac{\sqrt{O + B} - \sqrt{O}}{\sqrt{O + A} + \sqrt{O + B} - \sqrt{O}} \quad (2)$$

$$\text{Gen O} = r = \frac{s}{v} = \frac{\sqrt{O}}{\sqrt{O + A} + \sqrt{O + B} - \sqrt{O}} \quad (3)$$

Las frecuencias obtenidas pueden emplearse para calcular el número esperado de sangre AB en la muestra, haciendo entonces la comparación con el número observado y calculando lo significativo de la desviación:

$$\begin{aligned} w &= v^2 \\ x &= w - (O + A + B) = \text{número esperado de sangres AB.} \\ y &= \text{número observado de sangres AB.} \\ z &= \text{desviación} = x - y = \text{AB (esperado - observado).} \\ \text{variación: } &\frac{wx}{tu} \end{aligned} \quad (4)$$

$$\chi^2 = \frac{(\text{desviación})^2}{\text{variación}} = \frac{tuz^2}{wx} \quad \text{para un grado de libertad}$$

Aplicando las fórmulas (1), (2) y (3), DOBSON e IKIN, en 1.946, empleando sólo los sueros anti-A y anti-B, en una población de 190.177 personas del Reino Unido, obtuvieron los siguientes resultados:

Grupo O : 88782 muestras (46,684 %)
 Grupo A : 79334 muestras (41,716 %)
 Grupo B : 16280 muestras (8,560 %)
 Grupo AB : 5781 muestras (3,040 %)

$$\text{Gen A} = p = (1) = \frac{410,0195 - 297,9630}{410,0195 - 324,1326 - 297,9630} = 0,256898$$

$$\text{Gen B} = q = (2) = \frac{324,1326 - 297,9630}{436,1891} = 0,059995$$

$$\text{Gen O} = r = (3) = \frac{297,9630}{436,1891} = 0,683105$$

$$p + q + r = 0,999999$$

Si los cálculos de las frecuencias génicas incluyen el cuarto gen, ésto es, el A_2 , WELLISCH y THOMSEN dieron la siguiente fórmula:

$$p_1 = \sqrt{\bar{O} + \bar{A}_1 + \bar{A}_2} - \sqrt{\bar{O} + \bar{A}_2} \quad (5)$$

$$p_2 = \sqrt{\bar{O} + \bar{A}_2} - \sqrt{\bar{O}} \quad (6)$$

$$q = \sqrt{\bar{O} + \bar{B}} - \sqrt{\bar{O}} \quad (7)$$

$$r = \sqrt{\bar{O}} \quad (8)$$

donde \bar{A}_1 , \bar{A}_2 , \bar{B} y \bar{O} representan la proporción de la población en los distintos grupos.

IKIN y cols. usando los sueros anti-A, anti- A_1 y anti-B, en una población de 3.459 individuos del sur de Inglaterra, tuvieron los resultados que siguen:

Grupo O : 1.503 muestras (43,45⁵¹ %)
 Grupo A_1 : 1.204 muestras (34,81 %)
 Grupo A_2 : 342 muestras (9,89 %)

Grupo B : 297 muestras (8,58 %)

Grupo A₁B: 91 muestras (2,63 %)

Grupo A₂B: 22 muestras (0,63 %)

cuyas frecuencias génicas por el método de máxima posibilidad de STEVENS serían:

Gen A₁ = P₁ = 0,208959

Gen A₂ = P₂ = 0,069649

Gen B = q = 0,061166

Gen O = r = 0,660226

En cuanto a la herencia hagamos las siguientes consideraciones. De una unión matrimonial, valorando sólo los seis genotipos que se plasman en el cuadro VIII, los genotipos posibles en la descendencia vendrán dados en función de los veintiún cruzamientos teóricos posibles entre los padres (cuadro XI).

AA x AA	AB x AB	AO x AO	BB x BB	BOxBO	OOxOO
AA x AB	AB x AO	AO x BB	BB x BO	BOxOO	
AA x AO	AB x BB	AO x BO	BB x OO		
AA x BB	AB x BO	AO x OO			
AA x BO	AB x OO				
AA x OO					

cuadro XI

Pero si consideramos los diez genotipos resultantes (ver cuadro IX) de la combinación de los cuatro genes alelos, A₁, A₂, B y O, los genotipos posibles en la descendencia serán producto de los cincuenta y cinco cruzamientos posibles entre los progenitores (cuadro XII)

$A_1 A_1 \times A_1 A_1$	$A_1 A_2 \times A_1 A_2$	$A_1 O \times A_1 O$	$A_2 A_2 \times A_2 A_2$	$A_2 O \times A_2 O$
$A_1 A_1 \times A_1 A_2$	$A_1 A_2 \times A_1 O$	$A_1 O \times A_2 A_2$	$A_2 A_2 \times A_2 O$	$A_2 O \times B B$
$A_1 A_1 \times A_1 O$	$A_1 A_2 \times A_2 A_2$	$A_1 O \times A_2 O$	$A_2 A_2 \times B B$	$A_2 O \times B O$
$A_1 A_1 \times A_2 A_2$	$A_1 A_2 \times A_2 O$	$A_1 O \times B B$	$A_2 A_2 \times B O$	$A_2 O \times A_1 B$
$A_1 A_1 \times A_2 O$	$A_1 A_2 \times B B$	$A_1 O \times B O$	$A_2 A_2 \times A_1 B$	$A_2 O \times A_2 B$
$A_1 A_1 \times B B$	$A_1 A_2 \times B O$	$A_1 O \times A_1 B$	$A_2 A_2 \times A_2 B$	$A_2 O \times O O$
$A_1 A_1 \times B O$	$A_1 A_2 \times A_1 B$	$A_1 O \times A_2 B$	$A_2 A_2 \times O O$	
$A_1 A_1 \times A_1 B$	$A_1 A_2 \times A_2 B$	$A_1 O \times O O$		
$A_1 A_1 \times A_2 B$	$A_1 A_2 \times O O$			
$A_1 A_1 \times O O$				$B B \times B B$
			$B O \times B O$	$B B \times B O$
		$A_1 B \times A_1 B$	$B O \times A_1 B$	$B B \times A_1 B$
	$A_2 B \times A_2 B$	$A_1 B \times A_2 B$	$B O \times A_2 B$	$B B \times A_2 B$
$O O \times O O$	$A_2 B \times O O$	$A_1 B \times O O$	$B O \times O O$	$B B \times O O$

Cuadro XII

Tomando como punto de partida las distintas parejas de progenitores, fácilmente deducimos el grupo sanguíneo (fenotipo) posible en los hijos, circunstancia que reflejamos en cuadro XIII.

En consecuencia, la aparición en un descendiente de un gen o antígeno no presente en el genotipo de los padres, excluye la paternidad biológica de uno o ambos cónyuges; este aspecto es de sumo interés en Medicina Legal para casos de exclusión de la paternidad; así, por ejemplo de una pareja O x A es imposible que nazca un niño de grupo sanguíneo B ó AB; por la misma razón un hombre de grupo O no puede tener

FENOTIPOS

PAREJAS	HIJOS POSIBLES	HIJOS IMPOSIBLES
O x O	O	A ₁ ;A ₂ ;B ;A ₁ B y A ₂ B
O x A ₁	O;A ₁ y A ₂	B ;A ₁ B y A ₂ B
O x A ₂	O;A ₂	A ₁ ;B ;A ₁ B y A ₂ B
O x B	O;B	A ₁ ;A ₂ ;A ₁ B y A ₂ B
O x A ₁ B	A ₁ ; B	O;A ₂ ;A ₁ B y A ₂ B
O x A ₂ B	A ₂ ; B (A ₂ B ?)	O;A ₁ ;A ₁ B y ¿A ₂ B?
A ₁ x A ₁	O;A ₁ y A ₂	B;A ₁ B y A ₂ B
A ₁ x A ₂	O;A ₁ y A ₂	B;A ₁ B y A ₂ B
A ₁ x B	O;A ₁ ;A ₂ ;B;A ₁ B y A ₂ B	ninguno
A ₁ x A ₁ B	A ₁ ;B;A ₁ B y A ₂ B	O;A ₂
A ₁ x A ₂ B	A ₁ ;A ₂ ;B;A ₁ B y A ₂ B	O
A ₂ x A ₂	O;A ₂	A ₁ ;B;A ₁ B y A ₂ B
A ₂ x B	O;A ₂ ;B;A ₂ B	A ₁ ;A ₁ B
A ₂ x A ₁ B	A ₁ ;B ;A ₂ B	O;A ₂ y A ₁ B
A ₂ x A ₂ B	A ₂ ;B ;A ₂ B	O;A ₁ y A ₁ B
B x B	O;B	A ₁ ;A ₂ ;A ₁ B y A ₂ B
B x A ₁ B	A ₁ ;B;A ₁ B	O;A ₂ y A ₂ B
B x A ₂ B	A ₂ ;B;A ₂ B	O;A ₁ y A ₁ B
A ₁ B x A ₁ B	A ₁ ;B;A ₁ B	O;A ₂ y A ₂ B
A ₁ B x A ₂ B	A ₁ ;B;A ₁ B;A ₂ B	O y A ₂
A ₂ B x A ₂ B	A ₂ ;B ;A ₂ B	O;A ₁ y A ₁ B

Fenotipos posibles en la descendencia,
según el fenotipo de los padres.

un hijo de grupo AB; sin embargo, en éste último caso es muy importante significar que se han descrito ejemplos excepcionales en los que siendo el padre O el hijo era AB; empero, esto no invalida el uso de los grupos sanguíneos ABO en pruebas de paternidad pues, como veremos, la debilidad serológica del antígeno B y la presencia simultánea de cierta clase de anti-B en el suero de esos niños AB, hacen fácilmente reconocibles estas excepciones.

SEYFRIED, WALEWSKA y WERBLINSKA fueron los primeros, en 1.964, en sugerir que los antígenos A y B podrían heredarse juntos de un sólo padre; el caso que ellos citan es el de una hija A_2B , de madre O, que casó con un hombre de grupo O y que tuvieron dos hijos A_2B ; el antígeno B era más débil de lo normal y el suero contenía cierta cantidad de anti-B. Datos similares fueron referidos más tarde por YAMAGUCHI y cols (1.965); MOULLEC y Le CHEVREL (1.959), ANDERSEN (1.960), etc. La característica común en todos los ejemplos publicados es, como dice BOETTCHER, que se trata siempre de A_2 y no de A_1 el acompañante de B en el mismo cromosoma, es decir, que las madres son todas A_2B ; KOBAI supone, además, que el B débil refleja un efecto de la posición que ocupa en el cromosoma, o sea, el gen B da un efecto más débil en la posición "cis" con A (AB/O) que en la "trans" normal (A/B). En suma, en todos estos infrecuentes casos la madre es un "cis AB", donde el fragmento B en el locus, produce un antígeno de sólo $\Delta H = 2.000$ cal./mol., en vez de las 16.000 cal/mol. producidas por un locus B normal.

Composición y estructura química de los antígenos A, B y H.

Los estudios realizados para estudiar la composición química de los antígenos eritrocitarios A, B y H han sido muy dificultosos e incompletos, debido a estar éstos íntimamente ligados a los estromas de los hematies. Sin embargo, se ha podido llegar a su conocimiento por medio del análisis de las estructuras de las sustancias A, B y H y hallando la relación entre éstas y los antígenos eritroci

tarios.

Los trabajos de KABAT ya demostraron la identidad de la estructura química de estos antígenos y de la sustancia Lewis. Dicha estructura está formada por una cadena peptídica compuesta por quince o dieciseis aminoácidos, principalmente la prolina, serina, treonina y alanina, que forman la mayor parte de este esqueleto péptido. Sobre él se asientan las cadenas de oligosacáridos formados por D-galactosa, L-fucosa, N-acetil-D-glucosamina, N-acetil-D-galactosamina y ácido N-acetil-neuramínico.

Las variaciones en las proporciones, naturaleza y disposición de estas cadenas dan especificidad a cada una de estas sustancias A, B y H y Lewis.

Con el estudio estructural, por degradación progresiva, podemos ver cómo al ir actuando los diferentes enzimas sobre estas sustancias, pasan de una especificidad a otra y recorriendo el camino en sentido inverso, podremos reconstruir cómo se forman estos antígenos a partir de un glucolípido precursor, ya referido en apartados anteriores, por acción de los genes H, A y B (ver figura V).

Así, cuando actúa el enzima del *Clostridium Welchii* o *Tertium* sobre los sacáridos situados más periféricamente en la sustancia A, los degrada, convirtiéndolos en sustancia específica H.

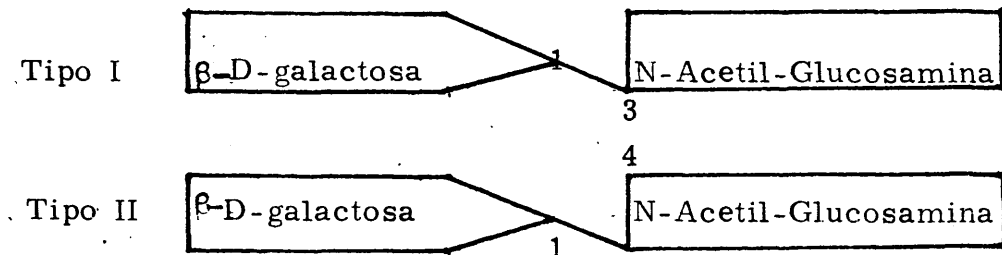
Igualmente, cuando actúa el enzima B del *Tricomonas Foetus* o el alfa-galactosidasa del grano del café sobre la sustancia B, la degrada, poniendo de manifiesto una especificidad H.

Y si sobre esta sustancia H hacemos actuar el enzima H del *Tricomonas foetus*, la degradaría de nuevo, apareciendo una especificidad Le^a .

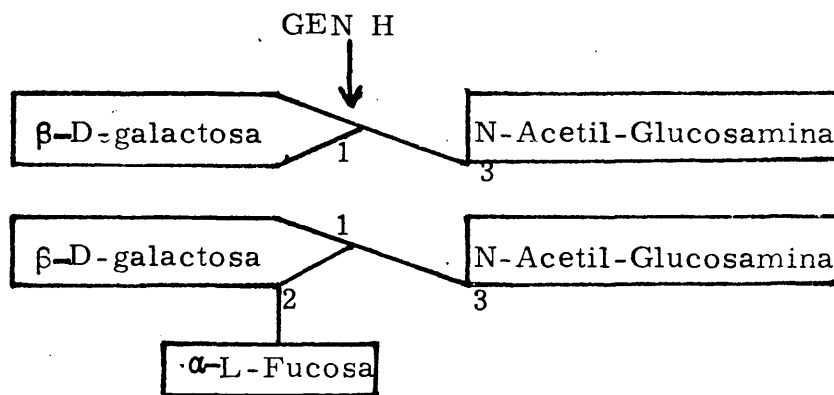
Una nueva degradación nos llevaría a una nueva especificidad, la de una sustancia capaz de neutralizar el anti-neumococo XIV del suero de caballo inmunizado. Esta última sustancia sería muy simi-

lar al precursor glulípido sobre el cual actuarían los genes para formar los antígenos A, B y H.

Esta sustancia, según WATKINS, obtenida por hidrolisis parcial de las sustancias H y Le^a, tendrían dos estructuras de diferente especificidad, dando lugar al tipo I y al tipo II:

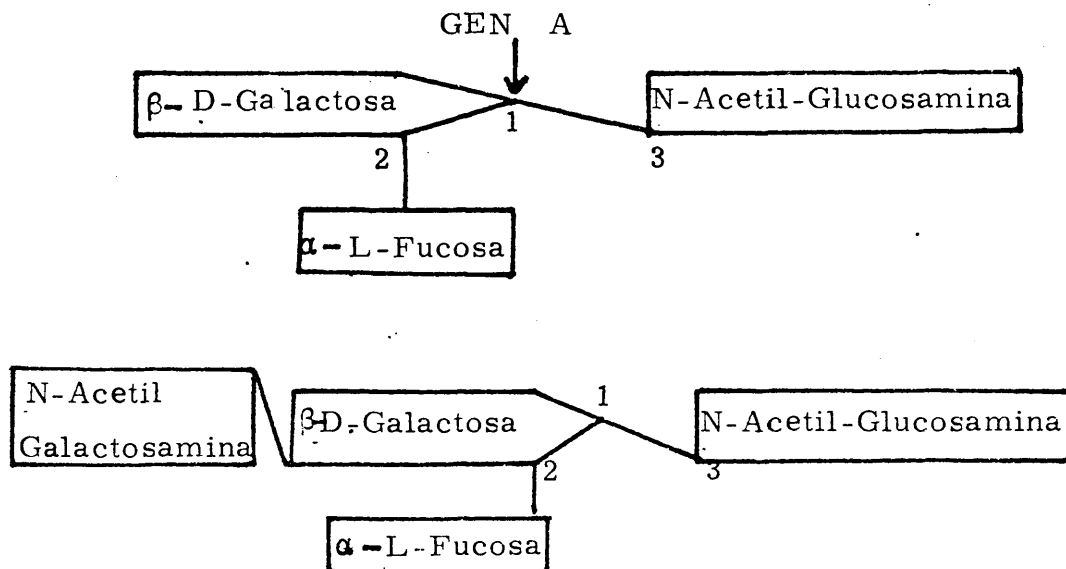


El gen H actuaría sobre el tipo I, introduciendo en su molécula una L-Fucosa.



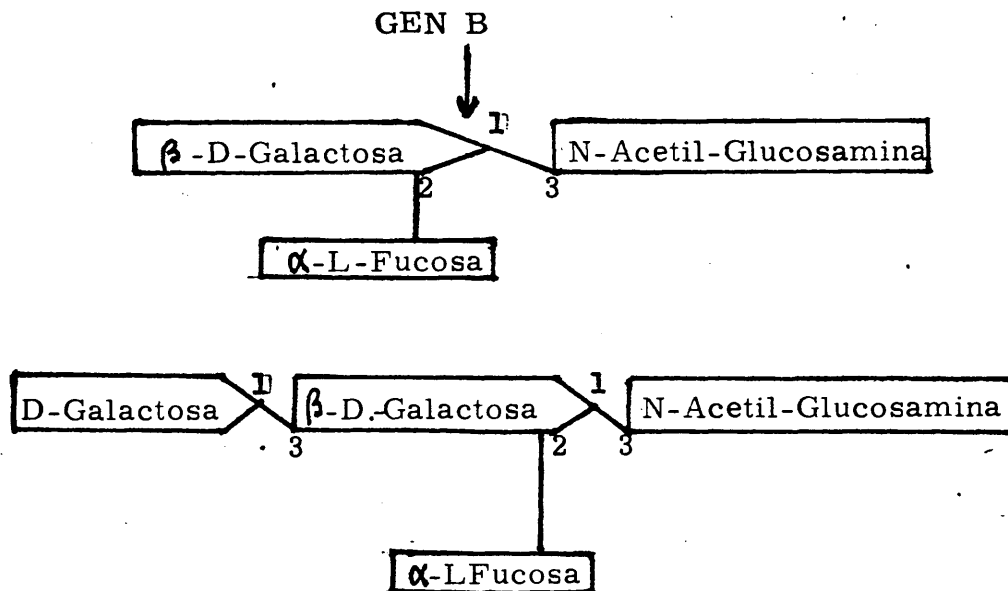
transformándola en sustancia H.

Si sobre esta sustancia H actúa el gen A, introduce en su molécula un grupo N-Acetil-galactosamina:



transformándola en sustancia A.

Y si sobre la sustancia H actúa el gen B, introduce en su mo lécula un grupo D-Galactosa:



transformándola en sustancia B.

Igualmente, obtendríamos las estructuras químicas tipo II cuando los genes actuasen sobre la forma tipo II del neumococo XIV. Este aspecto, así como el compendio gráfico de lo expuesto puede contemplarse en la figura IX.

.../...

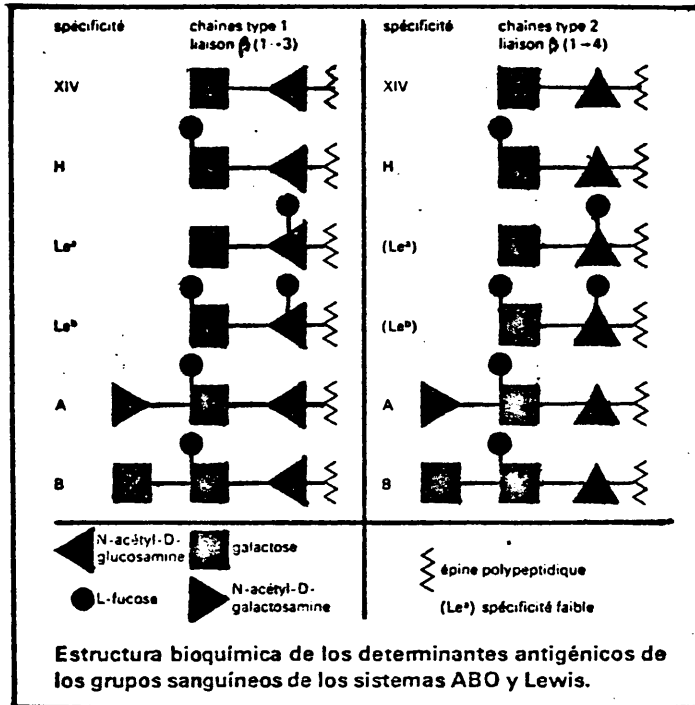


Figura IX

La composición porcentual de los antígenos A, B y H la resumimos seguidamente:

- Antígeno A: Peso molecular: 260.000; Fucosa: 18 %
Hexosamina: 37 %.
- Antígeno B: Peso meolecular: 1.800.000; Fucosa: 18 %.
Hexosamina: 20 %.
- Antígeno H: Peso molecular: 320.000: Fucosa: 14 %.
Hexosamina: 31 %.

Sistema ABO y las enfermedades.

La búsqueda de una correlación entre los grupos sanguíneos y las enfermedades es tan primitiva como el propio conocimiento de los grupos sanguíneos; de hecho hasta 1.900 al fenómeno de la isoaglutinación se le consideraba como una expresión patológica. El descubrimiento de los grupos ABO y la demostración de su naturaleza fisiológica anuló la eventual unión entre los grupos sanguíneos y la patología, pero la doctrina de la constitución antigénica de HIRSZFELD, en 1.919, hizo reaparecer con mayor ilusión el deseo de encontrar un paralelismo entre determinadas enfermedades y los citados grupos sanguíneos. El pionero de esta serie de trabajos sería ALEXANDER, en 1.921, quien inició una distribución entre el ABO y 50 enfermos afectados de lues, tuberculosis y neoplasmas.

En el momento presente, aunque nada definitivo puede sentenciarse, tal como se colige de las estadísticas publicadas, parece ser que el pertenecer a un definido grupo sanguíneo predestina a padecer ciertas enfermedades; ésto que apuntamos es especialmente válido para el sistema ABO si bien, como se verá en los capítulos correspondientes de esta tésis, en los restantes sistemas de grupo sanguíneo se han hallado también evidentes relaciones.

Pese a lo expuesto, hasta el año 1.953, con el estudio del paralelismo entre el sistema ABO y el carcinoma de estómago hecho por AIRD, BENTALL y ROBERTS, no empezaron con formalidad científica las investigaciones que referimos pues para extraer conclusiones correctas serán necesarias las premisas siguientes: número suficiente de enfermos, empleo de análisis estadístico adecuado al estudio, diagnóstico y clasificación cierta de la enfermedad y ausencia de errores en la tipificación de los grupos sanguíneos.

Dejemos por sentado que las relaciones reales y supuestas halladas son multitudinarias y variadas; por esta razón nos limitaremos a un reducido glosario de aquellas que se valoran como más probables.

Numerosos trabajos son los que ratifican la clara incidencia del grupo A en el cancer gástrico; la discusión se centra en la topografía primaria y estructura patológica del cáncer; así, BILLINGTON, en 1.956, en 172 carcinomas prepilóricos y 86 yuxtacardiales encontró una elevada casuística del grupo A y en 225 carcinomas fúndicos halló relación con el grupo O; HADDOCK y Mc.CONNELL, en 1.956, por el contrario comentan un total de 443 casos, con una presencia mayor de A en los carcinomas de cardias y fundus, en comparación con los de pílogo y antro; claro está que el problema estaba en la imposibilidad de averiguar el foco primario, sobre todo en los avanzados. DICK, SCHNEIDER y BROCKMULLER, en 1.962, subdividieron un reducido número de enfermos A en subgrupos A_1 y A_2 y apreciaron un exclusivo aumento de A_1 en el carcinoma gástrico. EKLUND, en 1.964, hizo análisis histopatológico de estas neoplasias y dedujo que esta relación entre el grupo A y el cáncer de estómago se reducía exclusivamente al cáncer escirro sin que pudieran encontrar influencia alguna de los grupos sanguíneos sobre el adenocarcinoma.

Asimismo se acepta una relación entre la anemia perniciosa y el grupo A.

Un equipo de la Clínica de la Concepción, Fundación Jimenez Diaz, halló una frecuencia mayor del grupo A en sujetos con $HB_s Ag$ positivo; simultáneamente nosotros, en 1.973, detectamos idénticos resultados en un conjunto de pacientes con clínica de hepatitis y antígeno Australia positivo.

Los estudios de la úlcera gástrica y duodenal revelan un extraordinario predominio del grupo O.

Siguiendo con el aparato digestivo, parece ser que en enfermos con colecistitis el grupo A es frecuente y en colelitiásicos abunda el AB.

En los tumores malignos de órganos sexuales, tales como - carcinoma cervical, cuerpo uterino y fibroma de útero, la incidencia del grupo A es muy elevada.

Estadísticamente la diabetes sacarina es más dable en sujetos del grupo sanguíneo O.

Igualmente en la cardiopatía isquémica predomina el grupo O, si bien los israelitas apuntan un mayor porcentaje del grupo A en el infarto de miocardio.

También el grupo O es muy frecuente en enfermos reumáticos y asma bronquial.

Según investigaciones de SCOTT y cols. en 1.969, en partos con placenta previa y síndrome de afibrinogenemia, en el grupo O existe menor capacidad de coagulación sanguínea.

En la azoospermia se aprecia predominio significativo del grupo O.

También parece haber una mayor incidencia del grupo O en las anemias hemolíticas adquiridas y afectos de hemorroides.

En el terreno dermatológico, el vitíligo, para SEHGAL y DUBE, es más dable en los sujetos B y A y según GUPTA y cols. el acné vulgar parece más frecuente en los grupos A y AB.

RENWICK y LAWLER, en 1.955, descubrieron que el alelo responsable del llamado "síndrome uña-rotula" y "osteodisplasia hereditaria" está ligado al locus ABO.

RAPLEY y cols. en 1.968, encontraron claro ligaje entre el ABO y la adenilatocinasa.

Las pruebas de ligaje entre el locus responsable de la enfermedad recesiva llamada xeroderma pigmentoso y el ABO son abrumadoras y las proporcionaron EL-HAFNAW y cols.

Investigaciones realizadas por De LUCA y COCCOLA en una población norteamericana, afecta de esquizofrenia, les permitieron - observar esta enfermedad mental con mayor insistencia en los grupos AB y B; pero ésta cuestión es discutible toda vez que los métodos de diagnóstico hoy día no son definitivos y de hecho muchos "esquizofrénicos americanos", en Europa, se etiquetarían como neuróticos o psicópatas.

Estudios llevados a efecto por nosotros, en 1.974, en hemodones el mayor número de ellos rechazados por enfermedad luética, correspondió al grupo O, seguido en orden decreciente de los grupos A, AB y B.

Ahora bien, ¿cuál es la causa biológica que interrelaciona los grupos sanguíneos con estas enfermedades?, Se han invocado diferentes teorías; de un lado esta influencia podría deberse a la propia estructura química de los antígenos, así como a las diferencias físicas o a sus capacidades inmunobiológicas; pero de otro no se descarta que también los genes ABO desempeñan un papel en otros procesos fisiológicos que nada tienen que ver con la producción de antígenos.

Amén de los trabajos mencionados, se han verificado otros con pretensión de averiguar la influencia de los grupos sanguíneos sobre la estatura corporal, obesidad, longevidad, temperamentos, etc, pero cuya trascendencia no pasa de la pura y simple anécdota; en esta serie de investigaciones podemos incluir los curiosos datos recogidos por JORGENSEN, en 1.968, sobre deportistas y soldados voluntarios; en deportistas activos, de edad superior a los 40 años, aparece con mayor incidencia el grupo O que en la población normal, y en soldados alemanes, cuya actividad física representa un factor selectivo sucede igual.

Su distribución geográfica.

Es un hecho sobradamente conocido el que la distribución de grupos sanguíneos está claramente diferenciada en distintas partes de la tierra. Fué HIRZFELD el primero en comprobar estas variaciones de grupos sanguíneos según las razas. Los investigadores W.C. BOYD y L.C. BOYD, de Boston, estudiaron muestras tomadas de momias de la época precolombina, aztecas de Méjico e incas del Perú, así como también de momias egipcias, contemporáneas a Tutankhamen y llegaron a la conclusión de que ya en aquellos lejanos tiempos la distribución y frecuencias de los grupos sanguíneos del sistema ABO eran prácticamente las mismas que en nuestros días, cuando lo lógico sería pensar que por mezcla de razas "los antígenos específicos" de cada raza se habrían difuminado. Probablemente la explicación a esta invariabilidad distributiva reside en el principio establecido por CLAUDE BERNARD sobre la capacidad de los seres vivos para mantener constante su "milieu interieur" o, como más modernamente, el matemático HARDEY y el físico WEINBERG dijeron en determinadas condiciones "la proporción entre dos o más caracteres contrastantes en una población, se mantiene constante de generación en generación".

De forma general puede decirse que en el mundo Occidental, en la población blanca europea y americana hay predominio del grupo A; cuando nos acercamos a Oriente el incremento del grupo B es cada vez más notorio, en tanto que en indios y negros de América hay abundancia del grupo O, en especial en sudamericanos y en Africa, preferentemente en negros; es decir, se observa un aumento gradual de la frecuencia del gen O al avanzar del hemisferio norte al sur.

El reparto del antígeno A, según MOURANT y con las modificaciones introducidas por BERNARD y RUFFIE, en su libro de "Hematología geográfica" en población indígena sería la siguiente:

En Europa se observa un claro predominio, como ya hemos apuntado, del gen A con incidencias del 25-30 %, cifras que tienden a alcanzar el 30-35 % en zonas extremas de este Continente, es decir,

en Escandinavia, Finlandia, región galaica y sudoeste españoles, así como en Portugal, Rumania y Bulgaria; el Laponia llega al 40 %. En Italia meridional, Islandia e Irlanda, desciende al 15-20 %.

Su distribución por el resto de la tierra varía notoriamente. En América del Sur y Central casi está ausente siendo sus valores máximos del 5 %. En EE. UU. la media está alrededor del 20 %, excepto todo el sur que sólo llega al 5-10 % y en Albert que es del 50 %. En Canadá incide con un 30-35 %; en la franja más occidental de Alaska y en un núcleo septentrional de este país las frecuencias son del 25-30 % y del 35-40 %, respectivamente.

En Groenlandia el gen A tiene porcentajes similares a Islandia, o sea, del 15-20 % pero a medida que nos instalamos en la región sudeste las cifras aumentan al 20-25 % y llegan a ser del 25-30 % en la parte más meridional.

En Australia la frecuencia del gen A se incrementa del 20-25 % en el norte al 40-45 % en el sur.

En Africa el máximo exponente de A se sitúa en la zona más septentrional, entre el 20-25 %, y en el resto el valor se reduce al 20 % e incluso en Africa oriental y sudoriental las incidencias son del 5 % y 15 %, respectivamente.

En la mitad occidental de Asia el porcentaje de A se cifra en el 20-25 %; iguales valores alcanzan el extremo oriental de Siberia y China, en su franja lindante al archipiélago japonés. En la India, Asia Oriental, Sakhalin, Sumatra, Borneo y Java, desciende al 15-20 %; en cambio, en Japón y Corea es del 30 %.

Por último, en relación a los subgrupos, el A_2 se desconoce prácticamente en América y Asia y su máxima incidencia es africana y europea; las relaciones entre A_1 y A_2 son en Africa de 10/4 y en Europa de 10/1-3.

Los fenotipos de B se distribuyen, según los porcentajes verificados por MOURANT y con las modificaciones de BERNARD y RUFFIE, en poblaciones aborígenes del modo que sigue:

Frecuencias del 0 al 5 % aparecen en Australia, NUEVA Zelanda, Groenlandia y toda América, con excepción de Alaska donde se eleva del 5-10 %, coincidiendo estos porcentajes con los hallados en el extremo más oriental de Siberia, lo cual no deja de ser natural y hasta puede sugerirnos la posibilidad de una colonización de Alaska - por tribus siberianas o viceversa, si bien puede también sustentarse la idea de una franca influencia invasora genética anglo-francesa en esta Península, ya que en Francia y Gran Bretaña, del mismo modo que en España y Escandinavia, las incidencias del grupo B son igualmente del 5-10 %.

Valores comprendidos entre el 10 y 15 % de antígeno B los encontramos en el sudeste y norte de Africa, en zonas colindantes de los Pirineos, en Europa central, Turquía, Dinamarca, Noruega y Nueva Guinea.

El resto de Africa, con pequeñas excepciones tales como las antiguas posesiones españolas, donde el B sigue siendo del 5-10 %, la incidencia del antígeno B se eleva al 15-20 %, frecuencias que también aparecen en Alemania oriental, parte occidental de Rusia, Península de Arabia, la casi totalidad de Siberia y parte meridional de la India, Java, Sumatra, Formosa e islas sureñas del Japón y el Archipiélago de Filipinas.

Entre el 20-30 % el antígeno B se difunde por el este y sur de Rusia y, marginando las zonas descritas, por Asia y las islas de Borneo, Sakhalin y norte del Archipiélago japonés.

Valores del 30-35 % se encuentran al norte de Madagascar.

El gen O tiene su máxima incidencia en la parte meridional de EE. UU., en América del Sur y Centro-américa, es decir, allí -

donde escasean los genes A y B, tomando porcentajes del 95-100 %. El resto de EE. UU. llega al 60-65 % y en indios de este país y del Canadá ascienden al 85-90 %.

En Australia, sobre todo en el norte, llega al 80 %.

En la costa mediterránea africana y en sudáfrica oscila alrededor del 70 % y luego aumenta al 75 % en Africa negra.

En Groenlandia los valores son muy parecidos a los canadienses (85-90 %).

En Asia las frecuencias son más bajas, del 45-50 %, subiendo al 65-70 % en la India, Indochina, Borneo, Sumatra y Nueva Zelanda. En la mitad oriental de Siberia llega al 70-75 %.

En Europa por lo general la frecuencia del gen O es del 50-55 % pero en Escandinavia se incrementa al 60-65 %; en ciertos islotes, verbigracia, vascos y galeses, sube al 60 %.

El grupo AB muestra diferencias inapreciables de unas zonas a otras, lógico de comprender por lo dicho acerca de los genes A y B.

Prescindiendo de las características zonales descritas, de modo general se admiten las frecuencias de fenotipos y genotipos del sistema ABO que en el cuadro XIV se plasman.

Material y métodos de Laboratorio.

La mecánica que seguimos para la investigación de los grupos sanguíneos no sólo del sistema ABO sino también, como se verá en los correspondientes capítulos, de los restantes sistemas fué siempre la misma; esto es, aprovechamos las muestras de sangre obtenidas a enfermos ingresados en este Hospital y a donadores de sangre; pero en el caso concreto del sistema que nos ocupa, este segundo grupo de personas lo excluimos, salvo para la estadística de "donante universal"

Grupo Sanguíneo		Fenotipos		Genotipos		Probabilidades
Designación	Frecuencia	Designación	Frecuencia	Designación	Frecuencia	
O	43.5	O	43.5	OO	43.5	Todos homocigotos
				A₁O	25.1	De todas las personas A ₁ : 8 de cada 10 (heterocigotos)
A	39.2	A₁	31.0	A₁A₂	2.3	1 de cada 14 (heterocigotos)
				A₁A₁	3.6	1 de cada 9 (homocigotos)
		A₂	8.2	A₂O	7.9	De todas las personas A ₂ : 26 de cada 27 (heterocigotos)
		(Todos los A que NO SON A ₁)		A₂A₂	0.3	1 de cada 27 (homocigotos)
B	12.7	B	12.7	BO	11.9	De todas las personas B: 15 de cada 16 (heterocigotos)
				BB	0.8	1 de cada 16 (homocigotos)
AB	4.5	A₁B	3.4	A₁B	3.4	Todos heterocigotos
		A₂B	1.1	A₂B	1.1	Todos heterocigotos
		(Todos los AB que no son A ₁ B)				

Cuadro XIV

por las razones que ya en la introducción de la tesis hemos expuesto y sobre lo que volveremos a insistir en el apartado de "comentario final" de este mismo capítulo.

El análisis de grupo ABO se realizó el mismo día de la toma de material sanguíneo, es decir, trabajamos con muestras de "sangre fresca"; asimismo el retipaje (procedimiento inverso) de confirmación de grupo se hizo con "suero fresco". El tipaje, o determinación de antígenos, se verificó mezclando a temperatura ambiente los hematies problema con sueros conocidos de alto poder aglutinante y el retipaje, o determinación de anticuerpos, enfrentando el suero correspondiente a hematies de grupo A, B y O. Estas medidas son de gran utilidad práctica para el despistaje de subgrupos raros, de preferencia los del A y AB y nos sirvieron para detectar los casos poco frecuentes que más adelante detallaremos. El procedimiento de determinación de grupo en tubo de hemolisis, la titulación de aglutininas salinas y el empleo de lectina anti-H de *ulex europaeus*, fueron también valorados por nosotros. Con todo ello la posibilidad de clasificar erróneamente las muestras de sangre son teóricamente muy lejanas y en la práctica nulas; precisamente en el capítulo IV, en el apartado de material de vidrio, explicamos algunas de las causas de error en la tipificación de grupos tanto si trabajamos en portaobjetos como en tubo de hemolisis; pero además de estos motivos, la correcta clasificación grupológica puede alterarse en los casos siguientes:

- crioaglutininas (desaparecen a los 37 ° C).
- autoaglutinaciones.
- pseudoaglutinaciones (desaparecen en solución salina)
- panaglutinaciones.
- isohemolisis.
- antígeno T (en sangres viejas).
- enfermos transfundidos con macrodex, dextrano, etc.
- hematies con gelatina de Warton (procedentes de sangre de cordón).

No obstante, la falsa interpretación de resultados es excepcio-

nal y no suele ocurrir a ningún técnico experimentado en función de - que las aglutinaciones son tanto mejores cuanto más superficiales se hallen los antígenos y mayor sea el número de receptores antigénicos y el número de enlaces de los anticuerpos; pues bien, los receptores antigénicos ABO, que alcanzan cifras aproximadamente de 0,8 a 7 millones, están situados en la superficie del eritrocito tanto en las concavidades como en las profundidades y los anticuerpos anti-A, anti-B y anti-AB de que nos valimos son de naturaleza Ig.M., cuyas moléculas de gran tamaño, disponen de cinco a diez fuertes de enlace para anticuerpos; ésto es, para obtener aglutinaciones visibles una pareja de eritrocitos son suficientes tres o cuatro moléculas de Ig.M.

Las condiciones de los sueros testigos humanos que usamos son las aceptadas por el Instituto Nacional de la Salud de los EE. UU., es decir:

suero:	título:	avidez:
anti-A ₁	1/256	15 seg.
anti-A ₂	1/128	30 seg.
anti-B	1/256	15 seg.
anti-AB	1/128	30 seg.

esto sí trabajamos en tubo de hemolisis, pues si la prueba la hacemos en portaobjetos podemos admitir que los sueros son, según la avidez:

menos de 5 segundos: excelentes
 hasta 10 segundos: buenos
 hasta 20 segundos: medianos
 más de 20 segundos: malos.

a) - Tipaje (procedimiento directo):

a.1 - Método en portaobjetos.

- Sobre un gruposcopio colocamos una gota de suero anti-A, una gota de suero anti-B y otra gota de suero anti-AB.
- Añadimos a cada gota de los antisueros anteriores -

una pequeña cantidad de sangre problema recién extraída y mezclamos.

- Balanceamos el gruposcopio y dentro de un tiempo no superior a los dos minutos buscamos macroscópicamente aglutinaciones, dándolas la interpretación oportuna conforme el cuadro VII.
- Para una mejor visión de la aglutinación podemos situar el gruposcopio encima de un foco luminoso, pero evitando la acción del calor sobre el mismo, toda vez que el calor puede alterar las aglutinaciones débiles.
- En caso de que el grupo sanguíneo determinado sea A ó AB, enfrentaremos una pequeña gota de hematies problema a suero anti-A absorbido o lectina anti-A₁ (dolichos biflorus) y procederemos de la forma expuesta, esperando los resultados en un tiempo que no exceda al minuto (ver cuadro VII).

a.2 - Método en tubo:

- Disponemos tres tubos de hemolisis que rotulamos "A", "B" y "AB", en los cuales hemos depositado una gota o dos de suero anti-A, anti-B y anti-AB, respectivamente.
- Añadimos a cada tubo una o dos gotas de hematies frescos problema suspendidos al 2-5 % en solución salina fisiológica al 0,9 % (S.S.F.).
- Mezclamos y centrifugamos a 1.000 r.p.m. durante un minuto o a 3.400 r.p.m. durante 15-20 segundos.
- Buscamos macroscópicamente aglutinaciones mediante agitación suave de los hematies sedimentados en el tubo.
- La interpretación de resultados es la misma (ver cuadro VII).

b) - Retipaje (procedimiento inverso):

Todas las pruebas de grupo sanguíneo, excepto en niños - muy pequeños por razones ya consideradas en otro lugar, - deben confirmarse conforme hemos apuntado al principio de este apartado. Para ello nos valemos de la combinación de suero o plasma fresco de la sangre que deseamos clasificar y de hematies testigo A, B y O.

b.1 - Método en portaobjetos:

- Sobre un gruposcopio colocamos una gota de hematies frescos de grupo A, B y O, diluídos en S.S.F. al 40-50 %.
- Añadimos a cada gota de hematies un volumen ligeramente superior de suero o plasma problema y mezclamos bien.
- Balanceamos el gruposcopio y transcurridos dos minutos buscamos aglutinaciones y damos la interpretación que se refleja en el cuadro VII.
- El hallazgo de aglutinaciones, en ocasiones, debe ser muy paciente pues los títulos de aglutinación bajos pueden pasar desapercibidos; por ello es preferible el método en tubo de hemolisis.

b.2 - Método en tubo:

- Rotulamos tres tubos de hemolisis con las letras "A", "B" y "O", en los cuales hemos colocado, respectivamente, una o dos gotas de hematies frescos y suspendidos al 2-5 % en S.S.F. de grupo A, B y O.
- Agregamos a cada tubo una o dos gotas de suero•plasma problema y agitamos.
- Dejamos reposar la mezcla 5-10 minutos y centrifugamos durante un minuto a 1.000 r.p.m.
- Buscamos macroscópicamente aglutinaciones mediante

agitación suave de los hematies sedimentados.

- La interpretación la hacemos conforme el cuadro VII.

c) - Lectina anti-H:

Este "anticuerpo vegetal" derivado de la semilla Ulex eu
ropeaus, es de suma utilidad para distinguir los sub -
grupos de A. En virtud de lo descrito en el apartado
de genética y herencia del sistema ABO y de acuerdo -
con la representación gráfica de la figura VI, el grupo
O y los subgrupos raros de A (A_x , A_3 , A_2 , etc.) y -
AB (A_xB , A_3B , A_2B , etc.) son enérgicamente agluti-
nados por lectina anti-H, en grado diferente, hasta al-
canzar los grupos A_1 y A_1B que por ser muy pobres en
sustancia H no son aglutinados por esta lectina.

Para la investigación depositamos sobre un portaobjetos
una gota de la referida lectina y una gota de hematies
problema lavados en S.S.F.; mezclamos y extendemos -
sobre el portaobjetos y después de esperar dos minutos,
como tiempo máximo, buscamos aglutinación; en caso
afirmativo clasificamos la muestra de sangre como A_2 ó
 A_2B y si hay ausencia de aglutinación normalmente se
trata de A_1 o A_1B , pero en ocasiones podemos estar an-
te otro subgrupo raro.

Nuestra casuística.

En el anterior apartado dejamos constancia de las condicio-
nes precisas para realizar el presente trabajo de investigación
en condiciones ideales.

Pues bien, hemos estudiado 28.300 enfermos de nuestro Hospi

tal , de ambos sexos, no emparentados entre sí, sin limitación de edades, españoles aunque oriundos de todas las provincias españolas. Las determinaciones de grupo fueron hechas con sueros anti-A, anti-A₁, anti-B y anti-AB, verificando los retipajes enfrentando sus sueros a hematies de los grupos A, B y O; tanto en el primer caso como en el segundo empleamos los métodos en portaobjetos y/o en tubo, según las circunstancias, y cuando fué necesario recurrimos a la lectina anti-H.

Rechazamos a los donantes de sangre, ya que, por razones varias no están elegidos al azar y distorsionan ostensiblemente la realidad de los resultados finales tal y como tendremos ocasión de comprobar.

Los porcentajes encontrados los recogemos en el cuadro XV.

FRECUENCIAS OBSERVADAS

GRUPOS: Frecuencias de los valores absolutos.

Grupo O	11.840	casos	41,837455	%
Grupo A	12.854	casos	45,420494	%
Grupo B	2.587	casos	9,141342	%
Grupo AB	1.019	casos	3,600706	%
<hr/>				
Total	28.300	casos	99,999997	%

Cuadro XV

La distribución de fenotipos de los grupos A y AB fué:

FRECUENCIAS OBSERVADAS

SUBGRUPOS: Frecuencias de los valores absolutos

A ₁	10.125	} 12.854	35,777384	%	} 45,420494 %
A ₂	2.729		9,643110	%	
A ₁ B	774	} 1.019	2,734982	%	} 3,600706 %
A ₂ B	245		0,865724	%	

Cuadro XVI

En los cuadros XVI y XVII en la designación de A_2 y A_2B incluimos todos los fenotipos A que no son A_1 ni A_1B .

Un cálculo elemental nos permitirá comprobar los porcentajes de los fenotipos A_1 y A_1B valorando exclusivamente los grupos sanguíneos A y AB (cuadro XVII).

SUBGRUPOS CORRIENTES

Grupos sanguíneos	Fenotipos
A	A_1 78,769353 %
	A_2 21,230746 %
AB	A_1B 75,956826 %
	A_2B 24,043173 %

Cuadro XVII

En el cómputo general de las investigaciones hallamos diversos casos de subgrupos raros que detallamos seguidamente en el cuadro XVIII.

SUBGRUPOS RAROS

Fenotipo	Frecuencia
A_3 4 casos	0,031118 %
A_{e1} 1 caso	0,007779 %
A_3B 1 caso	0,981354 %

Cuadro XVIII

Para calcular las frecuencias génicas de A, B y O nos servimos de las fórmulas del profesor FISHER tal y como las aplicaron DOBSON e IKIN y FRASER ROBERTS; estas fórmulas ya fue-

ron expuestas en el apartado de genética y herencia del sistema ABO:

$$\begin{aligned}
 (1) \quad \text{Gen A} = p &= \frac{t - s}{v} = \frac{\sqrt{O + A} - \sqrt{O}}{\sqrt{O + A} + \sqrt{O + B} - \sqrt{O}} = \\
 &= \frac{\sqrt{11.840 + 12.854} - \sqrt{11.840}}{\sqrt{11.840 + 12.854} + \sqrt{11.840 + 2.587} - \sqrt{11.840}} = \\
 &= \frac{157,1432 - 108,8117}{157,1432 + 120,1124 - 108,8117} = \frac{48,3315}{168,4439} = \\
 &= 0,286929.
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 (2) \quad \text{Gen B} = q &= \frac{u - s}{v} = \frac{\sqrt{O + B} - \sqrt{O}}{\sqrt{O + A} + \sqrt{O + B} - \sqrt{O}} = \\
 &= \frac{120,1124 - 108,8117}{168,4439} = \frac{11,3007}{168,4439} = \\
 &= 0,067089.
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 (3) \quad \text{Gen O} = r &= \frac{s}{v} = \frac{\sqrt{O}}{\sqrt{O + A} + \sqrt{O + B} - \sqrt{O}} = \\
 &= \frac{108,8117}{168,4439} = \\
 &= 0,645981.
 \end{aligned}$$

$$p + q + r = 1.$$

$$0,286929 + 0,067089 + 0,645981 = 1.$$

Frecuencia del gen A	0,286929
Frecuencia del gen B	0,067089
Frecuencia del gen O	0,645981

Las frecuencias génicas obtenidas las empleamos para determinar el número calculado o esperado de sangres AB en la población estudiada, haciendo entonces la comparación con el número observado y viendo si la desviación es significativa (ver fórmula 4):

$$\begin{aligned}
 (4) \quad W &= 28373,347 \\
 x &= 1092,347 \text{ (Nº esperado de sangres AB)} \\
 y &= 1019 \text{ (nº ^{observado} esperado de sangres AB)} \\
 z &= \text{desviación} = 73,347 \\
 \text{variación} &= 1641,525
 \end{aligned}$$

$$\chi^2 = \frac{157,1432 \times 120,1124 \times 73,347}{28373,347 \times 1092,347} = 0,0446$$

Para este valor de χ^2 (0,0446), con un grado de libertad, se determina, en la tabla de FISHER de χ^2 , que la probabilidad (p) está comprendida entre 0,80 y 0,90, es decir, la diferencia no es significativa y por ende en la población estudiada puede hablarse de equilibrio genético.

Una vez conocidas las frecuencias génicas podemos establecer las frecuencias calculadas de los genotipos en sus valores decimal y absoluto (cuadros XX y XXI).

FRECUENCIAS CALCULADAS

Genotipos	Valor decimal Cálculos	Frecuencia de genotipos
O O	$r^2: (0,645981)^2$	0,417291
A A	$p^2: (0,286929)^2$	0,082328
A O	$2pr: 2 (0,286929) (0,645981)$	0,370701
B B	$q^2: (0,067089)^2$	0,004500
B O	$2qr: 2 (0,067089) (0,645981)$	0,086676
A B	$2pq: 2 (0,286929) (0,067089)$	0,038499
	Total	0,999995

Cuadro XXI

FRECUENCIAS CALCULADAS

Genotipos	Valor absoluto	Frecuencias de genotipos
	Cálculos	
O O	28.300 x 0,417291	11809,3350
A A	28.300 x 0,082328	2329,8824
A O	28.300 x 0,370701	10490,8380
B B	28.300 x 0,004500	127,3500
B O	28.300 x 0,086676	2452,9308
A B	28.300 x 0,038499	1089,5217
	Total	28299,8570

Cuadro XXI

Comparando los valores absolutos observados (cuadro XV) - con los calculados (cuadro XXI), con el fin de determinar si existe equilibrio genético en las muestras analizadas, utilizando sólo los fenotipos O, A y B, pues el AB ya ha sido valorado, tendremos:

$$\begin{aligned}
 \chi^2 &= \frac{(11.840 - 11809,335)^2}{11809,335} + \frac{(12.854 - 12.820,72)^2}{12820,72} + \\
 &+ \frac{(2.587 - 2580,280)^2}{2580,280} = \\
 &= 0,0796 + 0,0863 + 0,0175 = 0,1834
 \end{aligned}$$

Para este valor de χ^2 (0,1834), con un grado de libertad, - pues son dos genes los que intervienen en las operaciones, hallamos que la probabilidad (p), en la tabla de FISHER de χ^2 , está comprendida entre 0,60 y 0,70, lo cual confirma los datos adquiridos con la fórmula (4), ésto es, que la diferencia no es significativa y que por ello en el muestreo analizado hay equilibrio genético.

Cruzamientos posibles	Cálculos	Frecuencias esperadas de genotipos
A A x A A	A^4	$(0, 286929)^4 = 0, 006777$
A A x A B	$4 A^3 B$	$4 (0, 286929)^3 (0, 067089) = 0, 006340$
A A x A O	$4 A^2 O$	$4 (0, 286929)^2 (0, 645981) = 0, 061040$
A A x B B	$2 A^2 B$	$2 (0, 286929)^2 (0, 067089) = 0, 000741$
A A x B O	$4 A B^2 O$	$4 (0, 286929) (0, 067089)^2 (0, 645981) = 0, 014272$
A A x O O	$2 A^2 O$	$2 (0, 286929)^2 (0, 645981) = 0, 068709$
A B x A B	$4 A^2 B^2$	$4 (0, 286929)^2 (0, 067089)^2 = 0, 001480$
A B x A O	$4 A^2 B O$	$4 (0, 286929)^2 (0, 645981) = 0, 028544$
A B x B B	$4 A A B^3$	$4 (0, 286929) (0, 067089)^3 = 0, 000348$
A B x B O	$4 A A B^2 O$	$4 (0, 286929) (0, 067089)^2 (0, 645981) = 0, 006674$
A B x O O	$4 A A B O$	$4 (0, 286929) (0, 645981) = 0, 032132$
A O x A O	$4 A^2 O$	$4 (0, 286929)^2 (0, 645981) = 0, 137420$
A O x B B	$4 A B^2 O$	$4 (0, 286929) (0, 067089)^2 (0, 645981) = 0, 003338$
A O x B O	$4 A A B^2 O$	$4 (0, 286929)^2 (0, 645981) = 0, 064262$
A O x O O	$4 A A O^3$	$4 (0, 286929)^3 (0, 645981) = 0, 309382$
B B x B B	B^4	$(0, 067089)^4 = 0, 000020$
B B x B O	$4 B^3 O$	$4 (0, 067089)^3 (0, 645981) = 0, 000780$
B B x O O	$2 B^2 O$	$2 (0, 067089)^2 (0, 645981) = 0, 003756$
B O x B O	$4 B^2 O$	$4 (0, 067089)^2 (0, 645981) = 0, 007511$
B O x O O	$4 B O^3$	$4 (0, 067089) (0, 645981)^3 = 0, 072340$
O O x O O	O^4	$(0, 645981)^4 = 0, 174132$

Distribución de frecuencias calculadas en los genotipos resultantes de los veintidós cruzamientos teóricos posibles entre los padres.

G E N O T I P O S

PAREJAS	FRECUENCIAS CALCULADAS	H I J O S					
		A A	A B	A O	B B	B O	O O
AA x AA	0,006777						
AA x AB	0,006340	0,003170					
AA x AO	0,061040		0,030520				
AA x BB	0,000741	0,000741					
AA x BO	0,014272	0,007136	0,007136				
AA x OO	0,068709		0,068709				
AB x AB	0,001480	0,000740		0,000370			
AB x AO	0,028544	0,007136	0,007136		0,007136		
AB x BB	0,000348	0,000174		0,000174			
AB x BO	0,006674	0,001688	0,001688	0,001688	0,001688		
AB x OO	0,032132		0,016066		0,016066		
AO x AO	0,137420		0,068710			0,034355	
AO x BB	0,003338	0,001669			0,001669		
AO x BO	0,064262	0,016065	0,016065		0,016065	0,016065	0,016065
AO x OO	0,309382		0,154691			0,154691	0,154691
BB x BB	0,000020			0,000020			
BB x BO	0,000780			0,000390		0,000390	
BB x OO	0,003756					0,003756	
BO x BO	0,007511			0,001878		0,003755	0,001878
BO x OO	0,072340					0,036170	0,036170
OO x OO	0,174132						0,174132
Total	0,999995	0,082328	0,038499	0,370701	0,004500	0,086675	0,417291

Distribución de frecuencias calculadas en los genotipos ABO
para la descendencia, según resultados de nuestro trabajo

Considerando únicamente los seis genotipos descritos en el cuadro VIII, los genotipos posibles en la descendencia vienen dados en dependencia de los veintidós cruzamientos teóricos posibles entre los padres; las frecuencias decimales calculadas de estos veintidós genotipos resultantes de los mencionados cruzamientos los exponemos en los cuadros XXII y XXIII.

Hasta ahora sólo hemos tenido en cuenta tres genes, A, B y O y consecuentemente los seis genotipos a que dan lugar; pero como ya sabemos, siguiendo a THOMSEN, FRIEDENREICH y WORSÆ, actualmente se admite que el sistema ABO está integrado por cuatro genes, A_1 , A_2 , B y O, cuya combinación produce seis fenotipos que a su vez representan a diez genotipos (Cuadro IX). Por esta razón nos ocuparemos a continuación de determinar, a partir de las frecuencias absolutas observadas (cuadro XVI), las frecuencias génicas de A_1 y A_2 así como de hallar las frecuencias calculadas de los diez genotipos (cuadro XXV) que surgen al considerar los cuatro genes mencionados.

Si el valor del gen A es de 0,286929, una simple operación matemática nos permite conocer los valores de A_1 y A_2 toda vez que conocemos las incidencias absolutas de los fenotipos A_1 y A_2 (cuadro XVI).

De ello resulta:

$$A_1 = p_1 = 0,226011 \quad ; \quad A_2 = p_2 = 0,060918$$

$$A = p = p_1 + p_2 = 0,226011 + 0,060918 = 0,286929$$

Frecuencia del gen A_1 (p_1)	0,226011
Frecuencia del gen A_2 (p_2)	0,060918
Frecuencia del gen B (q)	0,067089
Frecuencia del gen O (r)	0,645981

Cuadro XXIV

Desglosamos seguidamente las frecuencias decimales calculadas para los fenotipos y genotipos en el cuadro XXV.

En el cuadro XXVI reflejamos, partiendo de los datos plasmados en el cuadro anterior, los porcentajes de presentación de los diferentes genotipos que se agrupan en un común fenotipo.

FRECUENCIAS CALCULADAS

		GENOTIPOS	
FENOTIPOS		Cálculos	Frecuencia decimal
O	O O	r^2	0,417291
A ₁	A ₁ A ₁	p_1^2	0,051080
	A ₁ A ₂	2 p ₁ p ₂	0,027536
	A ₁ O	2 p ₁ r	0,291998
A ₂	A ₂ A ₂	p_2^2	0,003711
	A ₂ O	2 p ₂ r	0,078704
B	B B	q^2	0,004500
	B O	2 q r	0,086676
A ₁ B	A ₁ B	2 p ₁ q	0,030326
A ₂ B	A ₂ B	2 p ₂ q	0,008173
Total			0,999995

Cuadro XXV

Fenotipos	Genotipos	Frecuencias en cada fenotipo
A ₁	A ₁ A ₁	13,782533
	A ₁ A ₂	7,429833
	A ₁ O	78,787633
A ₂	A ₂ A ₂	4,502821
	A ₂ O	95,497178
B	B B	4,935509
	B O	95,064490
A ₁ B	A ₁ B	99,999999 %
A ₂ B	A ₂ B	99,999999 %
O	O O	99,999999 %

Cuadro XXVI

En aras del interés que representa en Hemoterapia el llamado "donante universal", le hemos dedicado un apartado en este capítulo del sistema ABO, en el cual ya expresábamos las condiciones precisas para su consideración como tal. Pues bien, en nuestra casuística a todos los donantes de sangre de grupo O Rh negativo les hicimos las oportunas determinaciones y los resultados obtenidos - pueden contemplarse en el cuadro XXVII.

ESTUDIO DEL DONANTE UNIVERSAL						
" O - Rh NEGATIVO "						
Antígenos presentes	Nº de estudios		Donante universal: condiciones.			%
			Ac. Natural	Ac. inmune	Hemolisinas	
rh - cde	686		248	8	421	1,31 %
rh' - Cde	29	64	Excluidos por la capacidad de inmunización de los antígenos C, D y E			0,00 %
rh'' - cdE	27					
rh _y - CdE	8					
Diversos O-Rh (D)±	3221					
Totales	3971					0,22 %

Cuadro XXVII

Reservamos el comentario correspondiente para el apartado siguiente.

Comentario final. -

En un trabajo anterior, que realizamos sobre 8.682 donantes de sangre, los cálculos para las frecuencias de genotipos y la proporción entre los mismos dieron los resultados que en el cuadro - XXVIII se reflejan:

FRECUENCIAS CALCULADAS

Fenotipos	Genotipos	Cálculos	Frecuencia de Genotipos	Proporción de Genotipos
O	OO	$0,67814 \times 0,67814$	0,45987	45,98 %
A	AA	$0,26663 \times 0,26663$	0,07109	7,10 %
	AO	$2 \times 0,26663 \times 0,67814$	0,36162	36,16 %
B	BB	$0,05522 \times 0,05522$	0,00304	0,30 %
	BO	$2 \times 0,05522 \times 0,67814$	0,07489	7,48 %
AB	AB	$2 \times 0,26663 \times 0,05522$	0,02944	2,94 %
Total	Frecuencias en hemodonantes		0,99995	99,96 %

Cuadro XXVIII

Si comparamos estos datos con los registrados en los cuadros XV y XX, se apreciará una notoria diferencia; esta clara divergencia en relación con los presentados en la actualidad y los universalmente aceptados obedece a una simple pero definitiva eventualidad: los hemodonantes acuden a los Bancos de Sangre autoseleccionados; ésto es, en la casuística que ahora desarrollamos las muestras analizadas fueron tomadas al azar, sin orientación o presión alguna, en tanto que la correspondiente a donantes de sangre pertenecía a un vasto y heterogéneo conjunto de individuos procedentes de distintas razas, en tal modo que no erramos al manifestar que la experiencia englobaba indígenas cuyo suelo natal abarcaba desde el lejano Oriente (Japón, Filipinas, etc.) hasta las Indias de Cristobal Colón (EE. UU., Canadá, etc.) y desde las zonas más septentrionales (Escandinavia) a las meridionales tierras de Africa y América del Sur.

Los únicos porcentajes con discrepancias prácticamente inapreciables son los logrados para el fenotipo AB; en aquella ocasión las frecuencias eran de 3,64 % y en la actualidad son de 3,60 %, lo cual está dentro de la lógica genética y que se confirma en el cuadro XXIX. Para los demás genotipos, al ser diferentes las frecuencias génicas de A, B y O, la incidencia de genotipos se altera de forma ostensible (cuadros XX y XXVIII); así con donantes el fenotipo O alcanzaba un valor de 0,45987 y el fenotipo A 0,43271, esto es, el grupo sanguíneo O era más frecuente que el A, lo cual estaba en discordancia con la normal distribución geográfica de genes, que, recordemos, es en el Occidente, zona donde estamos ubicados, en la población blanca europea y americana, de predominio del grupo A, en tanto que en indios y negros americanos y en especial en sudamericanos habrá superioridad del grupo O; esta mayor incidencia del grupo O, hallada en aquella oportunidad podía atribuirse al gran contingente de estudiantes y transeúntes sudamericanos, franceses e ingleses, en los cuales, como quedó expuesto, abunda el grupo O. En la presente investigación, las frecuencias de genotipos y de fenotipos A y O (cuadro XXIX) corren parejos con los datos aportados por PICAZO GUILLEN, HOYOS SANZ y CAMPILLO y colbs en poblaciones españolas.

La incidencia del gen B adquiere un valor superior en este trabajo (9,14 %), con una frecuencia génica de 0,067089 al recogido con hemodonantes (7,73 %) y prácticamente iguales a los de CAMPILLO y colbs. e intermedios a los mostrados por PICAZO GUILLEN y HOYOS SANZ.

Las frecuencias génicas calculadas para A_1 y A_2 (cuadro XXIV) cobran valores de 0,226011 y 0,060918, respectivamente; IKIN y colbs, aplicando el método de máxima posibilidad de STEVENS, en un conjunto de 3.459 personas del sur de Inglaterra obtienen para el gen A_1 un valor de 0,208959 y para el A_2 0,069649.

El estudio de los genotipos donde figuran subgrupos de A (cua -

dros XXV y XXVI) nos remite los resultados que siguen: dentro del fenotipo A_1 , el genotipo más dable es el correspondiente a A_1O con una frecuencia calculada de genotipo de 0,291998 (78,78 %) y el genotipo menos frecuente el A_1A_2 que es de 0,027536 (7,43 %); el fenotipo A_2 se configura en su mayor parte por el genotipo A_2O cuya frecuencia decimal calculada es de 0,078704 (95,49 %).

El fenotipo B lo conforma en su casi totalidad el genotipo BO siendo su frecuencia decimal calculada 0,086676 (95,06 %). Dentro del genérico grupo AB el fenotipo o genotipo A_1B superabunda respecto al A_2B , siendo respectivamente las frecuencias calculadas de 0,030326 y 0,008173.

Sobre los llamados subgrupos raros de A hacemos el comentario siguiente (cuadro XVIII): el fenotipo A_3 está descrito con una frecuencia de 1 en 2.000 esto es, del 0,05 %; nosotros quedamos por debajo de este porcentaje pues sólo lo aislamos, en las 12.854 muestras de grupo A, en cuatro casos, lo cual representa el 0,031118 %; sin embargo, del fenotipo A_{e1} , que es excepcional, con sorpresa y satisfacción descubrimos un caso (0,007779 %); igual número encontramos de A_3B en los 1.019 grupos AB descritos, es decir, con una incidencia del 0,981354 %. $\rightarrow 0,0981354\%$

Terminemos dejando constancia de las frecuencias de fenotipos observadas en los subgrupos corrientes (cuadro XVII); dentro del grupo A hallamos que el 78,76 % pertenecen al fenotipo A_1 y el 21,23 % al fenotipo A_2 ; para AB el 75,95 % corresponden al fenotipo A_1B y el 24,04 % al fenotipo A_2B .

En resumen, todos los datos contemplados en nuestra casuística están inmersos en el mosaico genético que impera en Europa Occidental y dentro de un equilibrio genético deducible de un χ^2 de 0,0446 para una probabilidad comprendida entre 0,80 y 0,90.

En el cuadro XXIX recogemos los porcentajes encontrados en diferentes trabajos para los grupos sanguíneos del sistema ABO:

Autor	Nación	O	G r u p o s		
			A	B	AB
CAMPILLO y colbs	España	41,92%	45,38%	9,14%	3,56%
COLINO	España (donantes)	45,73%	42,90%	7,73%	3,64%
DOBSON e IKIN	Inglaterra	46,65%	41,71%	8,50%	3,04%
HIRSZFELD	Francia	43,20%	42,60%	11,20%	3,00%
HOYOS SANZ	España	38,21%	47,22%	10,09%	4,47%
KIRWAN-TAYLOR	Inglaterra	40,07%	46,80%	9,60%	3,20%
LEVINE	USA (blancos)	45,00%	41,00%	10,00%	4,00%
LEVINE	USA (negros)	48,00%	27,00%	21,00%	4,00%
MOLLER	Alemania	44,00%	38,00%	14,00%	4,00%
PICAZO GUILLEN	España	42,10%	45,66%	8,66%	3,58%
COLINO (tesis)	España	41,83%	45,42%	9,14%	3,60%

Cuadro XXIX

Refiriéndonos al donante universal (cuadro XXVII), de los 3.971 donantes de grupo O, 750 eran Rh₀ (D) negativo y de éstos, 64 tenían un antígeno C y/o E, repartidos de manera que 29 tenían los antígenos Cde, 27 los antígenos cdE y 8 los antígenos CdE; por la razón de inmunización prejuzgada al estar estos antígenos, centramos el trabajo en 686 O Rh negativo homocigotos (cde/cde). De éstos, solamente encontramos NUEVE personas que reunieran las citadas condiciones, lo cual quiere decir que tan sólo el 1,31 % de los donadores O Rh negativo (cde/cde) son verdaderamente "donantes universales" con respecto a los sistemas ABO y Rh. Si hubiéramos valorado únicamente el sistema ABO (3.971 del grupo O) resultaría un porcentaje mucho más exiguo, ya que aquel porcentaje disminuiría a 0,22 %.

CAPITULO VI

SISTEMA Rh-Hr

Descripción del sistema. - Nomenclatura, antígenos y anticuerpos. Genética y herencia del sistema Rh-Hr. - Sistema Rh y las enfermedades. - Distribución geográfica del sistema Rh. - Material y métodos de Laboratorio. - Nuestra casuística. - Comentario final. -

Descripción del sistema.

El sistema Rh, llamado durante algún tiempo factor Rh en la creencia de que estaba formado por sólo un antígeno, es más complejo de estudiar que el sistema ABO por varias razones; de un lado, la aparición casi continua de nuevos factores en el sistema; de otro, la persistencia, pese a intentos de reunificación, de dos nomenclaturas, la de WIENER (americana) y la de FISHER-RACE (euroepa), dos nomenclaturas en verdad no caprichosas, sino que defienden dos posturas genéticas distintas acerca del "sustratum" del sistema Rh y en la que WIENER aboga por la teoría del alelomorfo múltiple, frente a la del gen ligado de FISHER y RACE; y por si fuera poco, en la confección del sistema han intervenido médicos, genetistas, biólogos, etc, cada uno de los cuales ha aportado su propio lenguaje.

Sean cuales fueran las discusiones en esta materia, lo cierto es que debemos adelantar, antes de sumergirnos en el tema, un hecho de capital importancia; el descubrimiento del sistema Rh-Hr es fundamental y definitivo para las medidas de seguridad aplicables a la transfusión sanguínea. Es decir, antes de su

conocimiento era corriente el observar durante el transcurso de la transfusión cómo aún coincidiendo el grupo del sistema ABO del paciente con la sangre perfundida, se producían serios accidentes postransfusionales, en muchas ocasiones mortales, lo cual creaba estupor en los entendidos de aquella época y serían precisamente estas coincidencias, junto a otras motivaciones, las que conducirían a los hematólogos sobre la pista de nuevos antígenos presentes en los eritrocitos humanos. Sin embargo, es curioso hacer notar cómo el alemán DIENST, en 1.905, había sugerido como causa de la toxemia gravídica una inmunización materno-fetal, y OTTEMBERG, en 1.923, recordando lo expresado por DIENST, pensó que la ictericia del recién nacido podría ser debida al trasvase de sangre incompatible entre madre e hijo a través de la placenta.

Todos estos hechos abocarían forzosamente en el descubrimiento del sistema Rh-Hr. Fué precisamente LANDSTEINER, denunciante del sistema ABO y de los antígenos M, N y P, en ésta última ocasión en unión de LEVINE (1.927), quién una vez más encabezaría, junto con WIENER, en 1.937, el grupo de investigadores del nascente sistema Rh; los trabajos, que habrían de ser publicados en 1.940 por WIENER y PETERS, se realizaron con sueros obtenidos después de inyectar a conejos y cobayas con sangre de mono Rhesus; el fundamento del trabajo no era otro que el suponer en la sangre de estos simios la existencia, en forma más pura, de antígenos similares a los que aún no se habían logrado poner de manifiesto en la sangre humana. Existían los antecedentes de DIENST y OTEMBERG y la mortalidad transfusional, como punto de partida para la investigaciones, pero se había sumado a ello una circunstancia de singular transcendencia; en 1.939, LEVINE y STETSON, descubrieron un caso de inmunización materno-fetal independiente del sistema ABO; una mujer en segunda gestación dió a luz un feto muerto de ocho meses, con -

hemorragia post-partum, que hizo precisa la indicación de 500 ml. de sangre de su marido (grupo O como ella); durante la transfusión surgió una intensa crisis hemolítica que obligó a suspender aquella; se apreció entonces que el suero de esta mujer aglutinaba el 80 % de los hematies del grupo O, de varios donantes, pensándose por lo mismo que esta mujer tendría en su sangre un nuevo antígeno que le había sido proporcionado por su hijo, el cual a su vez lo había heredado de su padre. Este hecho volvería después a repetirse con mujeres embarazadas y definitivamente se colegiría que la causa del problema no era otra que una incompatibilidad de sangres entre la madre y el hijo. Puestas así las cosas, se dá el gran paso al concebirse que el responsable de estos cuadros clínicos era la presencia en la embarazada de un anticuerpo, hoy día conocido con el nombre de anti-D, ocasionado por el paso placentario a la madre de un antígeno que el niño tenía y del que la madre carecía. Este anticuerpo se pensó en un principio que sería de una especificidad idéntica al anticuerpo obtenido por LANDSTEINER y WIENER al inyectar sangre de mono Rhesus a conejos y cobayas y por ello se le llamó anti-Rh; sin embargo, años más tarde se ha comprobado que ésto no es así y al anticuerpo anti-Rhesus de conejo se le ha llamado, a propuesta de LEVINE, anti-LW en honor de LANDSTEINER y WIENER, manteniendo el nombre de anti-Rh al anticuerpo humano; son pues dos anticuerpos diferentes, pero con el fin de no confundir los muchos trabajos publicados sobre el sistema Rh se los denomina comunmente anti-Rh ya que sendos anticuerpos son de comportamiento serológico idéntico, llamándose a aquellos hematies humanos que por ellos son aglutinados Rh positivo.

Por consiguiente, podemos decir que, de momento, el factor Rh es un antígeno ligado a la estructura del hematie humano en el 85 % de los sujetos, en tanto que en el Rhesus macaco está presente en todos los individuos de la especie; aquellos que contie

nen aglutinógeno Rh se califican como Rh positivo y los que carecen de él se conocen como Rh negativo. A diferencia de lo que sucede en el ABO, en el que las aglutininas correspondientes son naturales, en el sistema Rh-Hr nunca existen en estado natural las aglutininas anti-Rh y cuando en una persona se aislan éstas, la responsabilidad de las mismas sólo es atribuible a un proceso de sensibilización hemoterápica, generalmente por embarazo o transfusión de sangre incompatible, de modo que puede decirse que el descubrimiento del sistema Rh está unido a la patogenia de la enfermedad hemolítica perinatal.

Multitud de nuevos antígenos de este sistema se han ido identificando de forma paulatina. En 1.941, se sabía que los antígenos Rh no eran tan simples como se había supuesto en principio; en 1.943, en EE. UU. dispondrán de tres antisueros con los que definían seis alelos, en tanto que en Inglaterra tenían cuatro antisueros con los que distinguían siete alelos. En la actualidad se reconocen cerca de treinta antígenos y anticuerpos y se diferencian más de cuarenta complejos génicos, cualificándose un grupo de antígenos que se comportan como simples alelos controlados (C, c, C^w y E, e, e^s) y otro que los integran antígenos compuestos de estos (por ejemplo, ce, Ce, CE, ce^s, etc.) y desde luego parece ser que aún no se ha llegado al límite de este complejo y atrayente sistema de antígenos y anticuerpos. La descripción de los mismos, con especial atención de aquellos que nos incumben para el trabajo, la realizaremos a lo largo de los siguientes apartados.

Nomenclatura; antígenos y anticuerpos.

A lo largo de este apartado se comprobará la extraordinaria belleza y atracción que el sistema Rh-Hr ofrece actualmente y lo mucho que aún promete. De momento, y a modo de introducción, adelantemos que con los diferentes antígenos iniciales (C, D, E, c, d y e) que se han ido integrando al sistema, se describen -

un total de treinta y seis genotipos posibles; en efecto, con el conocimiento de que el sistema Rh lo formaban tres pares de genes alelos (D y d; C y c; E y e), resultaba que si el cromosoma paterno tenía tres genes y el materno otros tres, la célula hija tendría seis genes en total; pues bien, con estos seis genes, en virtud de la exclusión que ejerce un alelo sobre otro en el mismo cromosoma, son posibles ocho combinaciones génicas en un sólo cromosoma:

Cde; cDe; cdE; CDe; CdE; cDE; CDE y cde, y dado que los genes, según FISHER y RACE, como veremos en el apartado de genética y herencia del sistema Rh, no se heredan aislados, sino el cromosoma entero, la combinación de los ocho cromosomas citados dará lugar a los treinta y seis genotipos Rh posibles transcritos en el cuadro XXX. Pero si agregamos antígenos de más moderna concepción,

		Cromosomas paternos (posibles)							
		Cd _e	cD _e	cdE	CD _e	Cd _E	cDE	CDE	cde
Cromosomas maternos (posibles)	Cde	Cde/Cde	Cde/cDe	Cde/cdE	Cde/CD _e	Cde/Cd _E	Cde/cDE	Cde/CDE	Cde/cde
	cDe	cDe/Cde	cDe/cDe	cDe/cdE	cDe/CD _e	cDe/Cd _E	cDe/cDE	cDe/CDE	cDe/cde
	cdE			cdE/cdE	cdE/CD _e	cdE/Cd _E	cdE/cDE	cdE/CDE	cdE/cde
	CDe				CDe/CD _e	CDe/Cd _E	CDe/cDE	CDe/CDE	CDe/cde
	CdE					CdE/Cd _E	CdE/cDE	CdE/CDE	CdE/cde
	cDE						cDE/cDE	cDE/CDE	cDE/cde
	CDE							CDE/CDE	CDE/cde
	cde								cde/cde

Cuadro XXX

la complejidad del sistema Rh es mayor y así, por ejemplo, la inclusión del C^w ya dará ocasión a cincuenta y cinco genotipos diferentes (cuadro XXXI).

El número de antígenos o formas antigénicas conocidas en la actualidad alcanza, como puede contemplarse en el cuadro XXXIII la nada despreciable cifra de treinta y tres; en este cuadro no se incluyen las llamadas formas débiles, D^u, C^u y E^u por carecer de entidad antigénica propia y por ello ROSENFELD no los admite en su nomenclatura.

GENOTIPOS Rh en la población inglesa (según RACE y colbs)

Frecuencia de grupo calculada (usando sólo 4 sueros) %	Reacción con 4 antisueros corrientes				Reacción con antisueros más raros					Constitución genética y antigénica	Símbolos		Frecuencia de genotipos calculada %
	CC ^w	c	p	E	puro C	puro C ^w	e	f	d		corrientes	WIENER y WEXLER ⁴⁷	
15,1020	-	+	-	-	-	-	+	+	+	cde/cde	rr	rr	15,1020
2,0609	-	+	+	-	-	-	+	+	-	cDe/cde cDe/cDe	R ⁰ r R ⁰ R ⁰	R ⁰ r R ⁰ R ⁰	1,9950 0,0659
0,9376	-	+	-	+	-	-	+	+	+	cdE/cde cdE/cdE	R ⁰ r R ⁰ R ⁰	r ⁰ r r ⁰ r ⁰	0,9235 0,0141
14,0769	-	+	+	+	-	-	+	+	-	cDE/cDE cDE/cdE cDE/cDe cDE/cde cDe/cdE	R ₂ R ₂ R ₂ R ⁰ R ₂ R ⁰ R ₂ r R ⁰ R ⁰	R ⁰ R ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰	1,9906 0,3353 0,7243 10,9657 0,0610
0,7644	+	+	-	-	+	-	+	+	+	Cde/cde C ^w de/cde	R ⁰ r R ⁰ wr	r ⁰ r r ⁰ w	0,7644 0,0000
34,8899	+	+	+	-	+	-	+	+	-	CDc/cDe CDc/cde cDe/CdE C ^w De/cDe C ^w De/cde C ^w de/cDe	R ₁ R ₂ R ₁ r R ⁰ R ⁰ R ⁰ r R ⁰ R ⁰ R ⁰ wR ⁰	R ⁰ R ⁰ R ⁰ r R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ wR ⁰ r ⁰ wR ⁰	2,0922 31,6759 0,0505 0,0664 1,0049 0,0000
0,0234	+	+	-	+	+	-	+	-	+	cdE/Cde CdE/cde CdE/cdE C ^w de/cdE	R ⁰ R ⁰ R ⁰ r R ⁰ r ⁰ R ⁰ wR ⁰	r ⁰ r ⁰ r ⁰ r r ⁰ r ⁰ r ⁰ wr ⁰	0,0234 0,0000 0,0000 0,0000
13,4178	+	+	+	+	+	-	+	-	-	CDc/cDE cDe/CDE cDE/Cde CDE/cde CdE/cDe cDE/CDE cdE/CDE CdE/cDE C ^w De/cDE C ^w De/cde C ^w de/cDE	R ₁ R ₂ R ⁰ R ₂ R ₁ R ⁰ R ₂ R ⁰ R ₁ r R ₂ r R ⁰ R ⁰ R ₂ R ₂ R ⁰ R ₂ R ⁰ R ₂ R ⁰ R ₂ R ⁰ wR ₂ R ⁰ wR ₂ R ⁰ wR ₂	R ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰	11,5000 0,0125 0,9685 0,2775 0,1893 0,0000 0,0687 0,0058 0,0000 0,3648 0,0307 0,0000
0,0097	+	-	-	-	+	-	+	-	+	Cde/Cde C ^w de/Cde C ^w de/C ^w de	R ⁰ R ⁰ R ⁰ wR ⁰ R ⁰ wR ⁰	r ⁰ r ⁰ r ⁰ wr ⁰ r ⁰ wr ⁰	0,0097 0,0000 0,0000
18,5073	+	-	+	-	+	-	+	-	+	CDc/CDe CDc/Cde CDc/C ^w De C ^w De/Cde C ^w de/CDe C ^w De/C ^w De C ^w de/C ^w De	R ₁ R ₁ R ₁ R ⁰ R ₁ R ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ wR ₁ R ⁰ wR ₁ R ⁰ wR ₁	R ⁰ R ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰	16,6097 0,8016 1,0539 0,0254 0,0000 0,0167 0,0000
0,2101	+	-	+	+	+	-	+	-	+	CDc/CDE Cde/CDE CdE/CDe CDE/CDE C ^w De/CDE CdE/CDE CdE/C ^w De C ^w de/CDE	R ₁ R ₂ R ⁰ R ₂ R ₂ R ₁ R ₂ R ₂ R ⁰ R ₂ R ₂ R ₂ R ⁰ R ₂ R ⁰ R ₂	R ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ r ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰	0,1985 0,0048 0,0000 0,0006 0,0062 0,0000 0,0000 0,0000
0,0000	+	-	-	+	+	-	+	-	+	CdE/Cde CdE/CdE CdE/C ^w de	R ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰ R ⁰	r ⁰ r ⁰ r ⁰ r ⁰ r ⁰ r ⁰	0,0000 0,0000 0,0000

Cuadro XXXI

En el momento presente, para denominar al sistema Rh se aceptan tres nomenclaturas distintas: la de WIENER, FISHER - RACE y ROSENFELD; las dos primeras, sobre cuyo fundamento genético nos detendremos en su lugar oportuno, serán las que con más asiduidad emplearemos; la de ROSENFELD, en un intento de limar las diferencias entre aquellas dos, propone, al margen de toda consideración genética, una denominación numérica de las especificidades serológicas identificadas en el sistema Rh, siguiendo el orden de descubrimiento de los distintos antígenos, de modo que se pondría primero las letras Rh seguidas de un número; así, por caso, el antígeno D de FISHER y RACE (Rh_0 de WIENER), corresponde al Rh1 de ROSENFELD, el antígeno C al Rh2 y así sucesivamente; ahora bien, algunos antígenos referidos por FISHER y RACE faltan en el estudio de WIENER y viceversa; verbigracia, los determinantes antigénicos Rh^A , Rh^B , Rh^C y Rh^D , que no figuran en la de FISHER, serían respectivamente el Rh13, Rh14, Rh15 y Rh16; por contra el Go^a de FISHER no está presente en la de WIENER; en el cuadro XXXIII reproducimos las equivalencias entre las diversas nomenclaturas comentadas y los sinónimos correspondientes.

A la nomenclatura que propuso WIENER (Rh-Hr) se sumó en 1.946, en la Conferencia Internacional de Hematología y Rh, celebrada en Dallas, la recomendada por FISHER-RACE, con la modificación de CAPELL; en esta nueva nomenclatura a los antígenos - Rh_0 , rh' y rh'' se los llamó, respectivamente, D, C y E y a los alelomorfos correspondientes hr_0 , hr' y hr'' se les tituló d, c y e; a los anticuerpos que WIENER denominaba anti- Rh_0 , anti- rh' , anti- rh'' ; anti- hr' y anti- hr'' , FISHER y RACE propusieron llamarlos con las letras griegas gamma, delta y eta mayúsculas para los antígenos D, C y E y minúsculas para los antígenos c y e; fué CAPELL el que modificó la designación de estos anticuerpos y les dió el nombre que hoy ostentan, es decir, de anti-D, anti-C, anti-E y anti-c y anti-e.

Con ésto damos una explicación del cuadro XXXII que es copia del cuadro informativo que el Instituto Nacional de Salud Norteamericano dió el 25-V-1949, comparando las nomenclaturas norteamericana e inglesa.

Antes de continuar debemos hacer notar que el antígeno d (Hr.) todavía no se ha logrado aislar y su existencia se infiere por lógica correspondencia alelomórfica con el antígeno D (Rh₀) ; en consecuencia, del anticuerpo anti-d, hasta el momento presente, tampoco se tienen muestras, si bien DIAMOND (1.946) HILL (1948) y HABERMAN (1.949) describieron tres, que más tarde WIENER (1.950) no confirmaría; en los ejemplos de HILL y HABERMAN el anti-d apareció en madres de genotipo CDe/cDe (R₁R₁) y uno de los sueros contenía una aglutinina salina anti-c y el otro un anti-c incompleto.

NOMENCLATURAS

WIENER-WESLER

(Rh-Hr)
anti-Rh₀
anti-rh'
anti-rh''
anti-Rh'₀
anti-Rh''₀
anti-hr'
anti-hr''

FISHER-RACE-CAPPELL

(C-D-E)
anti-D
anti-C
anti-E
anti-CD
anti-DE
anti-c
anti-e

Cuadro XXXII

Los antígenos del sistema Rhesus se forman en los primeros meses de la vida intraútero y en el momento del parto están totalmente desarrollados, localizándose en los eritrocitos casi, exclusivamente, si bien algunos investigadores han logrado aislarlos en las plaquetas y leucocitos. Su estructura química, nada fácil de analizar, es muy poco conocida; parece ser que estos antígenos Rhesus frecuen

NOMENCLATURA COMPARADA DE LOS ANTIGENOS DEL SISTEMA RHESUS

WIENER	FISHER-RACE	ROSENFELD	WIENER	FISHER-RACE	ROSENFELD
Rh ^o	D	Rh 1	Hr	-	Rh 18
rh ^o	C	Rh 2	hrs(hr ^s)	-	Rh 19
rh ^o	E	Rh 3	hrvH	e ^s (VS)	Rh 20
hr ^o	c	Rh 4	-	^G C	Rh 21
hr ^o	e	Rh 5	rh	CE	Rh 22
hr	ce(f)	Rh 6	rhv ^o	D ^v (Wiel)	Rh 23
rhi(rh _i)(rh ⁱ)	Ce	Rh 7	-	E ^T	Rh 24
rhv ¹ (rh ^v)	C ^v	Rh 8	-	LW	Rh 25
rhi(rh ⁱ)	C ⁱ	Rh 9	-	D ^{ea1} (c-like)	Rh 26
hrv(hr ^v)	ce ^s (V)	Rh 10	hri(hr ⁱ)	oE	Rh 27
rhv ² (rh ^v)	E ^v	Rh 11	hrH(hr ^H)	-	Rh 28
rh ^G	GD(G)	Rh 12	RH(total Rh)	-	Rh 29
Rh ^A	-	Rh 13	-	Go ^s	Rh 30
Rh ^B	-	Rh 14	hr ^B	-	Rh 31
Rh ^C	-	Rh 15	-	"TROLL"	Rh 32
Rh ^D	-	Rh 16	^o R Har	-	Rh 33
Hr ^o (Hr ^o)	-	Rh 17	-	-	

temente se comportan como mucopolisacaridos de estructura próxima a la de los antígenos ABO. pero con mayor riqueza en ácido N-acetilneuramínico.

La mayoría de los antígenos en cuestión tienen fuerte poder antigénico. El antígeno D (Rh_0) ocupa un lugar predominante ya que por sí sólo es el responsable de casi el 98 % de los casos de isoinmunización feto-materna y de la gran mayoría de las sensibilizaciones transfusionales (95 %); el orden decreciente de frecuencias de sensibilización observada es de D E, C, c, C^W , e, etc.; en el capítulo de "anticuerpos irregulares" de esta misma tesis, podemos contemplar que en nuestra casuística el orden fué: D (82,34 %); C (7,18 %), c (6,07 %); E (4,97 %) y C^W (3,31 %).

Un hecho muy llamativo es la variación de intensidad de aglutinación que un mismo anticuerpo específico ofrece respecto a diferentes eritrocitos portadores de un mismo antígeno. La diferente avidez de este anticuerpo por un mismo determinante antigénico se explica por la gran complejidad del sistema Rh, de modo que ésta está en razón de la configuración estructural de ese antígeno en relación con los otros antígenos que le acompañan en su genotipo. Pero tampoco debemos marginar la posibilidad de que ciertos "anticuerpos específicos" sean en verdad mezclas de anticuerpos dirigidos contra los antígenos asociados en el genotipo; así, un anticuerpo anti-c, si contiene anti-c+f, es más activo frente a hematies cde/cde que frente a hematies cDE/cDE. Todo ello nos hace suponer que la expresividad del antígeno en el fenotipo depende de ciertas circunstancias y que éstas son: dominancia antigénica, efecto de dosis, efecto de "encubrimiento" y efecto de posición. Analicemos estas cuestiones.

Hay antígenos, como el D (Rh_0), cuya expresividad es siempre la misma sea cual fuere el genotipo, esto es, son dominantes sobre los demás antígenos. Por contra, otros antígenos, son influenciados, como en el caso del sistema Duffy, por el efecto de dosis, es decir, su manifestación fenotípica varía según se encuentre en estado homo o heterocigoto en el genotipo, de suerte que la presencia de un alelo más fuerte debilita su expresión; por ejemplo,

si concierne a los antígenos alelos de la serie Cc, el C debilita al C^w y éste al c. Pero esta influencia que describimos si es homo o heterocigoto también puede manifestarse por acción de otro antígeno no alelo (efecto de "encubrimiento"); verbigracia, la expresividad de C es inferior en el genotipo CDe/CDE que en el genotipo Cde/CDE, en virtud de que esta afección se ejerce en el sentido D > C > E. De otro lado la expresividad de dos antígenos puede ser modificada en función de la posición de los correspondientes genes en el mismo cromosoma (posición "cis") o en dos cromosomas diferentes (posición "trans"); así con un suero anti-C, el antígeno C tiene una expresión más débil que E si el genotipo es CDE/cde en lugar de CDe/cdE, por la razón que en el párrafo anterior hemos expuesto.

Más adelante nos detendremos en el estudio detallado de los antígenos y anticuerpos de este sistema y en especial en aquellos que consideramos en esta revisión; ahora nos interesa referirnos a las características generales de los anticuerpos anti-Rh:

- no son naturales, ésto es, son siempre consecuencia de inmunización transfusional, o bien inmunización fetomaterna, o cualquier hemoterapia en la cual haya existido paso de antígenos Rhesus de una persona a otra que carecía de ellos.
- pueden ser anticuerpos ~~in~~completos (Ig. M) o anticuerpos ~~in~~completos (Ig. G). Los primeros son activos en solución salina y aparecen al principio de la inmunización (por ello también se les llama "precoces") siendo de corta vida; desde luego son menos frecuentes que los Ig. G.; no fijan complemento y no atraviesan la barrera placentaria. Los anticuerpos Ig. G. son activos en medio albuminoideo y aparecen en el curso de una inmunización después de los Ig. M. (por eso se llaman -

tambien "tardios"), persistiendo en el organismo que los adquiere largo tiempo; tampoco fijan el complemento y en cambio sí atraviesan la barrera placentaria, por ser microanticuerpos.

- son anticuerpos calientes, es decir, más evidenciables a 37 °C; pero en tanto los Ig. M. son termolábiles, éstos son de amplitud térmica más amplia y desde luego son termoeestables.
- para provocar la aglutinación de los eritrocitos que contienen los antígenos correspondientes, se necesitan tres técnicas: reacción macromolecular, prueba de Coombs indirecta y empleo de hematies tratados con enzimas proteolíticas.
- la calidad de estos anticuerpos se valora por el título y su avidéz, los cuales, por cierto, al ir en aumento en el curso de una inmunización, nos permite establecer el pronóstico de una incompatibilidad Rh. Pues bien, el título ideal, o sea, la dilución más alta a la cual el anticuerpo aún es activo, no debe ser inferior a 1/64; la avidéz, es decir, la rapidez de aparición de las primeras aglutinaciones, debe estar cerca de los 15 segundos.

Seguidamente nos ocuparemos, sin entrar en aspectos genéticos, los cuales serán abordados en el apartado posterior, de los antígenos conocidos hasta el presente del sistema Rh-Hr, haciendo mención conjunta de sus anticuerpos específicos; estos antígenos para su estudio podemos subdividirlos en varios grupos (cuadro XXXIV):

- I) antígenos simples alelomorfos y determinantes antigénicos de D (Rh₀).
- II) Antígenos compuestos.
- III) Formas de transición, deprimidas o complejos génicos.
- IV) Tipos defectivos o supresión.

- 120 -
ANTIGENOS DEL SISTEMA RH-Hr y SUS SINONIMOS

I.) Antígenos simples alelomorfos (y determinantes antigénicos de D (Rh₀) .-

I.-1.) Serie D - d : D (Rh₀-Rh 1) ; d (Hr) ; D^u(D débil)
D^w(Wiel - rhw^o - Rh 23)

I.-2.) Componentes antigénicos de D (Rh₀) :

Rh^A , Rh^B , Rh^C , Rh^D ; Go^s(Rh 30)

I.-3.) Serie C - c : C (rh^r- Rh 2) ; c(hr^r- Rh 4); C^u(rh^r);
C^w(C Willis - rhw¹- Rh 8);

C^x(rhx - Rh 9) ; c^v

I.-4.) Serie E - e : E (rh^r- Rh 3) ; e (hr^r- Rh 5) ;

E^u(rh^r) ; E^w(rhw² - Rh 11) ;

E^t(Rh 24) ; e^x ; eⁱ

II.) Antígenos compuestos .-

f (ce - hr - Rh 6) ; V (ce^s-hrv - Rh 10);

G (CD - rh^G- Rh 12) ; C^G (Rh 21) ;

Cⁿ (rhⁿ- r^s-Cde^s) ; CE (rh -Rh 22) ;

Ce (rhi - Rh 7) ; cE (hri - Rh 27) ;

e^s (VS - hrvH - Rh 20) ;

antígeno Deal (c-like - Rh 26)

III.) Formas de transición,deprimidas o complejos génicos .-

complejos génicos : rⁿ ó (C)D(e)ó("Negro r"),
r^L , r^G , r^t ó (c)d(E).

complejos génicos : (c)D(E) ó (c)d(E) ,

(C)D - , V deprimido .

IV.) Tipos defectivos o supresiones .-

- D - (Rh₀) ; C^wD- ; Rh₀^u (cD -) ;

Rh₀ nulo (- - -/- - -) .

I) Antígenos simples alelomorfos y determinantes antigénicos de D (Rh_0):

I - 1.1 Antígenos D y d. -

El antígeno D, Rh_0 en la nomenclatura de WIENER y Rh_1 en la de ROSENFELD. es el más conocido e importante del sistema dada su alta antigenicidad y elevada capacidad inmunizante. Su frecuencia oscila alrededor del 85 % en la raza blanca, con las variaciones que luego citaremos. Investigaciones de SHAPIRO y WIENER permitieron conocer la existencia de cuatro determinantes en la formación del antígeno D: Rh^A , Rh^B , Rh^C y Rh^D , razonamiento que más tarde fué ratificado por UNGER, KATZ, TIPEET, SANGER y el propio WIENER. Fueron los trabajos de ARGALL, BALL y TRENTELMAN (1.953) los primeros en mostrar la presencia de un anti-D parcial en personas clasificadas como D (Rh_0) y cómo los casos estudiados no padecían de anemia hemolítica adquirida, pensaron que a estas personas les faltaba una parte de D normal y que habían hecho anticuerpos hacia la parte ausente; precisamente un caso de éstos describimos en nuestra estadística de anticuerpos irregulares. UNGER, WIENER y KATZ encontraron múltiples muestras de antígeno D con carencia de los componentes Rh^A , Rh^B ó Rh^C y que a la mitad de las sangres D^u (D débil) les faltaban uno o dos determinantes antigénicos.

Para manifestar ésta eventualidad se empezó a hablar de antígeno "D parcial" y con una representación tal que para indicar la ausencia, por caso de los componentes Rh^A y Rh^C se escribe Rh^{ac} ; si a este ejemplo se le transfunde sangre Rh positivo (D) configurado por sus cuatro determinantes normales, puede crear "anticuerpos parciales" anti- Rh^A y anti- Rh^C .

Estudiando TIPPETT y SANGER las interacciones entre los antígenos "D parciales" y anticuerpos "anti-parciales", demostraron la existencia de seis categorías distintas de antígeno D (ver cuadro XXXV) las cuales se designaron por cifras romanas: D^I , D^{II} y D^{VI} son atributo de la raza blanca y las categorías D^{IV} y D^V se dan por igual en cualquier raza, en tanto que la D^{III} es propia de negros; parece pues, como si los antígenos D tuvieran diferente frecuencia -

		Suero										Porcentaje aproximado de sueros anti-D positivos	
Células		II		III		IV		V		VI			
Categoría	No. de probados	(2)	(1)	(2)	(1)	(4)	(1)	(1)	(1)	(2)	(3)	(3)	
I	2 blancos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
II	2 blancos 1 desconocido	-	-	+	+	+	w	+	+	+	+	+	100%
III	3 negros (2)	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	100%
IV	4 negros (2) 1 blanco	-	-	w	-	-	-	+	+	+	+	+	96%
V	1 blanco (3) 1 negro (2)	+	+	-	+	+	+	+	-	-	w	+	74%
VI	13 blancos (3)	o w	+	o w	-	+	o w	+	-	-	-	-	35%

Los números entre paréntesis en la 2a. columna representan personas no relacionadas, de las categorías, pero sin anti-D en su suero.

Categoría I. Puede ser heterogénea. El anti-D en ambas personas es demasiado débil para dar resultados satisfactorios. Viaja con Ce en una familia.²⁸

Categoría II. Viaja con Ce en dos familias probadas.

Categoría III. Dos de estas muestras de células han sido clasificadas ²⁸ como Rh^a; el suero de la primera columna de la categoría III contiene el original ²⁸ anti-Rh^b. Las células de los cinco *propositus* son cDe/cde, positivos con suero anti-VS, pero reaccionan con sólo uno de dos sueros anti-V. Viaja con este peculiar ce en dos familias probadas.

Categoría IV. Una de estas muestras clasificadas ²⁸ como Rh^a rh; otro ejemplo ha sido publicado por separado.²¹ El suero de la 2a. columna de la categoría IV es, tal vez, solamente un ejemplo más débil de los cuatro de la primera columna. Viaja con ce en dos familias probadas. (Véase *Adenda*.)

Categoría V. La persona fundadora: la señora J. N. clasificada ²⁸ como Rh^a; el suero de la columna V fue llamado anti-Rh^o. Todas las personas de esta categoría reaccionan con anti-D^v (véase la sección sobre D^v, pág. 179).

Categoría VI. Las células de un miembro de esta categoría han sido clasificadas como Rh^a; dos como Rh^a^{ab}^{cd}, dos como Rh^a^{ab}^{cd}, pero Tippett no pudo distinguir estas cinco personas por ninguna reacción. Viaja con Ce en las cinco familias probadas. Todos los sueros anteriores se comportan como inmunes normales anti-D en sus reacciones con células D y dd comunes; ninguna de ellas contiene anti-C pero dos tienen anti-E y dos (una en la categoría IV y la señora J. N. de la categoría V) tienen anti-VS separable (-e⁺). Los 28 ejemplos de anti-D hechos en personas poco comunes, no pueden ser incluidos en el cuadro, ya sea porque son demasiado débiles, en pequeña proporción, o se encontraron cuando las células de los primeros ejemplos no se podían conseguir. Todas las pruebas registradas en el cuadro fueron hechas por los métodos de la papaina de Low, o de la licina.

Categorías de antígeno "D parcial" (Tomado de TIPPETT-SANGER)

racial; por último, si bien volveremos a esta consideración después, cierto número de hematies etiquetados hasta ahora como D^u se ha sabido que son en realidad portadores de "D parciales".

El antígeno alelomorfo de D es d (Hr), cuya existencia, como ya señalábamos en otro lugar, se sabe por lógica correspondencia alélica con el antígeno D, toda vez que para ponerlo de manifiesto se precisaría del anticuerpo anti-d y hasta el momento, salvo en tres discutidas ocasiones, no se ha logrado aislar.

El anticuerpo anti-D, es como se dijo, de naturaleza inmune y desde luego el más peligroso del sistema Rh-Hr; por tanto se comporta como un anticuerpo incompleto (Ig. G.), si bien algunos sueros pueden contener una mezcla de anticuerpo completo (Ig. M) e incompleto (Ig. G.); no obstante, en función de lo comentado sobre los determinantes antigénicos de D, este anticuerpo puede valorarse como la sumación de anticuerpos parciales, lo cual puede justificar el diferente comportamiento de distintos antisueros anti-D frente a las mismas muestras de hematies e incluso la dificultad que se encuentra para definir serológicamente el antígeno D^u ; es más, STRATTON, en 1.946, creyó demostrar que los anti-D podían ser de dos clases: anti-D y anti-D + anti- D^u , e intentó producir anti- D^u específico mediante absorción con hematies Dd con resultados negativos. A pesar de todo, la existencia de anti- D^u es muy dudosa.

En cambio, lo que es totalmente cierto es la diferencia que hay entre el anticuerpo obtenido por LANDSTEINER y WIENER (anti-LW), tras inyectar hematies de Rhesus a conejos, y el anticuerpo detectado por LEVINE y STETSON (anti-D) en el conocido caso de inmunización feto-materna. Es decir, los anticuerpos anti-D humano y anti-D Rhesus son distintos; fueron FISK y FOORD, en 1941, los primeros en observar que todos los niños recién nacidos, tanto Rh positivo como Rh negativo, definidos por suero anti-Rh, siempre eran Rh positivo con suero anti-LW; diez años después, MURRAY y

CLARK comprobaron cómo con extractos de hematies humanos, calentados, Rh negativo, podían crear anticuerpos anti-LW en cobayas ("efecto de MURRAY-CLARK"); en 1.961, LEVIN y cols. no sólo confirmaron esto sino que además vieron que el anticuerpo anti-LW difiere del anti-D humano en que todavía aglutinaba las células D después de haber sido bloqueadas con anti-D incompleto. En consecuencia pudo colegirse que el estroma de todos o casi todos los eritrocitos humanos contiene sustancia o antígeno LW y que por ello el anticuerpo anti-LW suele aglutinar los hematies de recién nacidos; TIPPETT, en 1.963, lanzó la hipótesis de que el gen responsable del antígeno LW no forma parte del locus complejo Rh.

I - 1.2 Antígeno D^u (D débil)

Dar una definición serológica del antígeno D^u en el momento presente es imposible, toda vez que no existe anticuerpo anti-D^u, pese a los citados trabajos de STRATTON, del mismo modo que tampoco los hay anti-E^u o anti-C^u; es más, todos los antígenos D^u no son revelados por un sólo suero testigo anti-D.

En principio se puede considerar el antígeno D^u como una variante débil en antigenicidad del antígeno D, o bien, siguiendo la pauta marcada al referirnos al C^u y E^u, como un antígeno alelomorfo de D.

El estudio del antígeno D^u es de sumo interés práctico - pues puede estimular la formación de anti-D en personas Rh negativas (dd) y porque algunas personas D^u pueden crear anti-D al recibir sangre Rh positivo.

Este aglutinógeno se une con un anticuerpo anti-D incompleto (Ig. G) sin provocar directamente la aglutinación de los hematies que lo contienen, siendo preciso para ponerlo en evidencia la presencia sobre los hematies D^u de aglutinina anti-D fijada sobre el antígeno - D^u, utilizar la prueba de Coombs indirecta.

Fué STRATTON el primero que informó de su existencia y su caracter hereditario en 1.946; comprobó que aún usando un anti-D ávido, ciertos hematies no daban los resultados esperados con este suero; las reacciones eran débiles en tubo y muy lentas sobre portaobjetos. Estos hematies empezaron a ser llamados por los ingleses D^u y WIENER pensó que provenían de genes intermedios.

Por otra parte, toda una serie de reacciones intermedias fueron descubiertas por STRATTON y RENTON, de un lado, y RACE, SANGER y LAWLER, de otro, y ello hizo hablar de antígenos D^u fuerte y D^u débil; esto es por lo que algunos investigadores han clasificado a los individuos de la variante D^u en "antígeno D^u de alto grado" y "antígeno D^u de bajo grado". La diferencia entre ambos reside en la capacidad o no de reaccionar el antígeno D con sueros anti-D en medio salino o albuminoideo; es decir, el de "bajo grado" es incapaz de aglutinar con suero anti-D de la modalidad que aglutina con algunos sueros tipificados anti-D salinos y con la mayoría de los destinados a la prueba sobre portaobjetos. De otra forma expuesto, el D^u fuerte o de "alto grado" se evidencia en medio albuminoideo y el D^u débil o de "bajo grado" sólo puede manifestarse con la prueba de Coombs indirecta. Esto así, teóricamente relatado, en la práctica se definiría de modo que todo antígeno que con suero anti-D incompleto (Ig. G.) en medio albuminoideo o salino, aglutine pasados los dos minutos de exposición en el portaobjetos (serían de "alto grado") o sea necesario emplear la prueba de Coombs indirecta o un tratamiento con enzimas para manifestarlo, se considerará como antígeno D^u . En ocasiones, para revelar la existencia del referido antígeno hay que recurrir a la elucción, es decir, separar los anticuerpos de los hematíes a los que están fijados.

La investigación de esta variedad débil es doblemente importante desde el punto de vista práctico de la transfusión; de un lado, sucede que es más frecuente de lo que se supone, de manera que un individuo D^u positivo debe ser catalogado como Rh positivo como -

134

donador de sangre, en tanto que como receptor se le considerará como Rh negativo. La razón es la siguiente: al recibir una persona D^u positiva sangre Rh (D) positiva puede crear "anticuerpos anti-D parciales" (recordar lo expuesto sobre los determinantes de D) y de otro lado un sujeto "cde" de genotipo al recibir sangre de donante D^u positivo puede provocar un anticuerpo, aunque raramente, anti-D responsable de accidente hemolítico transfusional; se ha descrito asimismo enfermedad hemolítica perinatal por antígeno D^u , circunstancia ésta que hemos podido constatar en un niño nacido en este Hospital.

Amén de lo descrito y según su modo de transmisión, CEPPELLINI en 1.955 probó la existencia de dos variantes: " D^u hereditario" y " D^u de interacción genética".:

a) Tipo hereditario: el individuo que hereda un gen D modificado, es capaz de transmitirlo igualmente a sus hijos. En padres D^u de "alto grado", todo hijo que hereda el D^u también es D^u de "alto grado". No se detecta el antígeno D^u cuando se halla presente el antígeno D en el otro cromosoma; por ejemplo, en el genotipo D/D^u , al no existir un anticuerpo anti- D^u no se puede desenmascarar el antígeno D^u que queda oculto por la dominancia del antígeno D normal. Los individuos Rh_0 negativos estimulados con hematies D^u pueden producir anti-D pero no elaboran anti- D^u .

b) Tipo de "interacción de genes".: el antígeno en cuestión resulta más débil que de costumbre a causa de la influencia posicional ("efecto de posición") de un gen situado sobre el cromosoma opuesto. En este caso no puede hablarse de D^u alelo de D normal, puesto que no es heredado por lo progenitores; lo que sucede es lo siguiente: normalmente suele tratarse de sujetos con genotipo CD^ue/Cde y CEPPELLINI sugirió que el gen C en posición "trans" (en el cromosoma opuesto al D) suprime o enmascara la actividad del D normal en el otro cromosoma; ésta interacción de un gen sobre otro ocasiona un efecto que no es evidente cuando los genes se comportan separadamente, que sería el caso de la siguiente generación. El D^u resultante de esta interacción sería de "alto grado".

Terminemos diciendo que su frecuencia es de alrededor del 1 al 2 % en la raza blanca; en los negros es mucho más dable y el porcentaje oscila entre el 2 y el 10 %; en esta raza, por cierto, el D^u se comporta como un determinante particular, D^w , del que nos ocuparemos posteriormente. En blancos cerca del 40 % de D^u encontrados son sujetos CD^u_e y el 10 % de los cDE suelen ser en verdad cD^u_E .

I - 1.3 Antígeno D^w (WIEL).

También llamado en la nomenclatura de WIENER rhw^o , y en la de ROSENFELD Rh-23.

Lo pusieron de manifiesto, en 1.962, CHOWN, LEWIS, y KAITA, quienes lo llamaron Wiel por ser el apellido de la señora donde apareció. Es muy frecuente en negros, donde, como se ha dicho, se comporta como un determinante particular de D^u (categoría D^v de TIPPET); tanto en el caso de la señora Wiel, como en los posteriores ejemplo descritos en negros, por TIPPETT, CHOWN y CLEGHORN. En la raza blanca es muy infrecuente y en un caso citado por CHOWN y cols. el cromosoma parecía ser CD^u_e .

El anticuerpo que define este antígeno se halló en un suero (Bill) que contenía además anti-C y anti- C^w separables.

I - 2) Componentes antigénicos de D (Rh_o).

Al referirnos al antígeno D ya hemos dejado en claro algún aspecto de la cuestión que ahora nos ocupa y en el cuadro XXXV se aprecia una manifestación gráfica de ello. Agreguemos, empero, que allí sólo hablábamos de cómo se cita la ausencia de las fracciones de D, pero cuando queramos plasmarlo en el genotipo tendremos que proceder de modo que lleve la anotación oportuna; así, por caso, si la ausencia es del determinante B y se produce en un cromosoma cDE la expresión correspondería a Rh_2^B .

El antígeno Go^a (González) considerado largo tiempo como un antígeno independiente y descrito por ALTER, GELB y LEE,

en 1.967, en la raza negra, ha sido incluido recientemente por LEWIS, CHOWN, etc. dentro de los determinantes antigénicos del antígeno D, valorándole como suplementario y presente en personas con "D parcial" de la categoría D^{IV}. Según TIPPETT se le puede admitir como reemplazante o una parte de la estructura usual de D en negros que antes se pensó faltaba. Desde luego este antígeno crea su propio anticuerpo anti-Go^a y puede ser causa de enfermedad hemolítica perinatal moderada, tal como mostraron ALTER, GELB y LEE en una familia de Puerto Rico (1.962).

I - 3.1 Antígenos C y c.

Son alelomorfos entre sí y en su locus pueden situarse otras formas alélicas que más adelante citaremos. En las nomenclaturas de WIENER y ROSENFELD se designan por rh'y Rh 2, el C, y hr'y Rh 4, el c.

El anticuerpo anti-C (anti-rh) se encontró en un elevado número de casos asociado a anti-D (anti-Rh₀) y el primer ejemplo de anti-C fué descrito por LANDSTEINER y WIENER en 1.941, si bien estaba mezclado con un anti-D incompleto, lo cual no es extraño pues este anticuerpo suele formarse normalmente en personas de genotipo cde/cde (r r); como veremos en su momento también puede ir mezclado en la forma anti-C + anti-C^w.

Pues bien, anti-C tiene la propiedad de aglutinar al 70 % de los individuos de raza blanca, lo cual quiere decir que el antígeno C tiene una frecuencia del 70 % y el 87 % de las ocasiones va unido al antígeno D en la combinación CDe.

El antígeno c es de gran interés dado su alto poder antigénico que algunos sitúan en segundo lugar, detrás de D (en nuestra casuística fué el tercero); está presente en casi el 80 % de los hematies humanos. Su descubrimiento se debe al conocimiento del anticuerpo anti-c, hecho que se produjo en 1.943 por TAYLOR y RACE y fué el primer suero del sistema Rhesus con el cual se ob-

servó el "efecto de dosis".

Ya veremos las interrelaciones de los antígenos C-c-Cw-
 C^u-c^v .

I - 3.2 Antígenos alelos de C y c: C^u , C^x y c^v .

La forma C^u (rh(γ)) fué referido en 1.948 por primera vez por RACE y colbs y más tarde RACE y SANGER (1.951). Observaron una forma débil del antígeno C y la consideraron como alelo de C, presente en el cromosoma C^uDe y cuya característica era el dar algunas, pero no todas, las reacciones de C, por lo cual se hace necesario para su detección el empleo de suero anti-C incompleto (Ig. G) y antiglobulina de Coombs.

En opinión de ciertos investigadores, más que un producto alelo de C, sería el resultado de una interacción genética, igual que sucedería con las variantes débiles D^u y E^u .

No se sabe si hay varias formas de C^u como las hay de D^u y al no existir anticuerpo específico anti- C^u y venir marcado por el antígeno C, quiere decirse que en la asociación CC^u no puede ser detectado. Según modernas hipótesis podría tratarse de un Rh deprimido y por ende clasificable dentro del epígrafe III del cuadro XXXIV.

Se admite la posibilidad de que C^u ocasione anticuerpos anti-C, pero no anti- C^u .

Su incidencia se acepta en torno al 0,18 %; en una población inglesa de 284 personas se encontró en una oportunidad.

El anticuerpo anti- C^x (anti-rhx; anti-Rh 9) lo hallaron STRATTON y RENTON en 1.954 en una madre de genotipo CDe/CDE y luego fué confirmado por RACE y SANGER (1.956), PLAUT y colbs (1.958) y CLEGHORN (1.961); con este anticuerpo anti- C^x se

identificó el antígeno C^x , sólo observable en la combinación C^xDe/cDe y con una frecuencia del 0,1 %. El antígeno C^x está presente en el 0,03 %.

Algunos, pero no todos, sueros anti-C reaccionan con sangres C^xc ; CLEGHORN encuentra que este anticuerpo anti- C^x muchas veces se asocia a los anticuerpos anti- Mi^a , anti- Wr^a en el suero de enfermos con anemia hemolítica adquirida.

Al mismo tiempo que RACE y colbs (1.948) y RACE y SANGER (1.951) referían el antígeno C^x descubrieron el alelo c^v ; sin embargo, en 1.960, estos mismos autores le valoraron no como forma alélica sino como una variante débil del antígeno C en el cromosoma CDE.

I - 3.3 Antígeno C^w (C Willis-rhw¹-Rh8.)

El antígeno C^w es el producto del gen C^w , un alelo en el locus C, pudiéndose pues considerar con c como alelo de C en opinión de CALENDER y RACE y desde luego de transmisión hereditaria.

El anticuerpo anti- C^w fué citada por primera vez por estos mismos investigadores, en 1.946, en una mujer con lupus eritematoso de genotipo CDe/CDE ($Rh_1 Rh_2$), politransfundida, en la que se halló junto a este anticuerpo, al que denominaron anti-Willis, otros del tipo anti-c, anti-N y anti-Lewis; el anti- C^w surgió al transfundir la sangre C^wDe/Cde ($Rh_1^w Rh_1$); es decir, que el anticuerpo anti- C^w apareció aún en presencia de antígeno C.

Se ha comprobado que el anticuerpo C^w original dá un marcado "efecto de dosis" cuando se enfrenta a hematies C^wDe/CDe y C^wDe/C^wDe , reaccionando más fuertemente con células homocigotas.

LAWLER, en 1.947, encontró el anti-C^W como causa hemolítica.

Por tanto, anti-C^W puede ser producido como respuesta específica al antígeno C^W, pero la mayoría de los sueros anti-C reaccionan con glóbulos C^W positivo; asimismo en algunos ejemplos se ha observado la presencia del anticuerpo anti-C^W aunque no haya existido estimulación conocida; de otro lado, si bien hemos dejado sentado que el anticuerpo es producido por inmunización al C^W, hay ocasiones en que el anti-C^W puede ser motivado por un individuo C; es más, la mayoría de los antisueros anti-C son anti-(C + C^W).

Todos los individuos rhw1 (C^W) positivos son también rh'(C) positivo, pero no todos los rh'(C) positivos poseen rhw1(C^W); por lo mismo su búsqueda debe hacerse en sujetos con genotipo Cc ó CC y no se ha descrito ningún caso en Rh negativo homocigoto (ccddee); es decir, puede estar presente en las combinaciones: C^WDe y C^WdE (CALENDER y RACE, 1.946), C^WDE (SANGER y PROKOP, 1.959), C^WdE (DUNSFORD y ASPINALL, 1.951), C^WD^ue (SANGER, 1.949) e incluso en el tipo defectivo C^WD - (GUNSON y DONHUE, 1.957).

Empero, su frecuencia más elevada se dá en las formas portadoras de las tripletas génicas CDe y CDE, que llevan los genotipos:

C ^W De/cde (R ₁ ^W r)	=	1 % para RACE y SANGER	} 1,6 % (WIENER)
C ^W De/cDe (R ₁ ^W R ₀)	=	0,07 % para RACE y SANGER	
C ^W De/cDE (R ₁ ^W R ₂)	=	0,36 % para RACE y SANGER	} 0,6 % (WIENER)
C ^W De/cdE (R ₁ ^W r')	=	0,03 % para RACE y SANGER	
C ^W De/CDE (R ₁ ^W R _z)	=	0,01 % para RACE y SANGER	
C ^W De/Cde (R ₁ ^W r')	=	0,02 % para RACE y SANGER	} 1,7 % (WIENER)
C ^W De/C ^W De (R ₁ ^W R ₁ ^W)	=	0,02 % para RACE y SANGER	
C ^W De/CDe (R ₁ ^W R ₁)	=	1,05 % para RACE y SANGER	

Vemos pues que en el fenotipo C^WDe (R₁^W) es muy dable, dando RACE y SANGER, en población inglesa, un total del 2,17 % y

WIENER, en blancos de Nueva York, un 3,30 %; en el fenotipo $C^w DE (R_1^w)$, RACE y SANGER dan para Inglaterra un 0,40 % y WIENER, en blancos de Nueva York, un 0,60 %.

De manera general la frecuencia del antígeno C^w es variable, aunque siempre baja; en blancos oscila entre el 2 y 3 %, transmitiéndose hereditariamente, asociado en un mismo cromosoma, $C^w De (R_1^w)$. En muchas ocasiones; por ejemplo, SHAPIRO dá un 0,31 %, PROKOP, en Bonn, un 1,7 % y PALAGI, en Pisa, un 1,76 %. En latvios, lapones y finlandeses se eleva hasta el 7 a 9 %.

I - 4. Antígenos E y e.

Designados en las nomenclaturas de WIENER y ROSENFIELD rh'' y Rh 23, el E y hr'' y Rh 5, el e, son alelos entre sí.

El suero anti- rh'' (anti-E) aglutina alrededor del 85 % de los hematies humanos y permite conocer la existencia del antígeno E, presente en el 30 % de las personas. Las dos primeras muestras de anti-E, en estado puro, fueron referidas por RACE, TAYLOR, BOORMAN y DOOD, en 1.943; el anti- rh'' aglutina a tan elevado número de eritrocitos por estar normalmente asociado, aunque con menor frecuencia que anti-C, a anti-D, tratándose por lo general de un anticuerpo incompleto (Ig. G) pero también suele anti-E asociarse a otros anticuerpos, hasta el punto de que anti-E sólo es bastante raro, casi tanto como anti-e (anti- hr''); en el momento de redactar estas líneas le hemos hallado, en un niño con talasemia mayor, unido a un anti-K + anti-Lu^a, pero que no incluimos en nuestra casuística, por estar pendiente de ratificación, ocupando en la mencionada estadística el cuarto lugar, dentro del sistema Rh, detrás de anti-D, anti-C y anti-c, con un porcentaje del 4,97 %, estando asociado en un caso a anti-D.

Anti-E es normalmente un producto de sensibilización en

personas de genotipo CDe/CDe (R_1R_1); en sujetos de genotipo cde/ - cde (r r) es más común, pero en éstos suele ser respuesta a insultos antigénicos del tipo cDE/cde (R_2r) por lo cual contiene también anti-D incompleto asociado; el primer caso de inmunización de esta clase la descubrieron WIENER y SONN, en 1.943. Asimismo, tal como arriba escribíamos, se han descrito otras asociaciones, ver gracia, anti-E + anti-c (WIENER y BRACANTO, 1.948), anti-E + anti-C^w (COLLINS y colbs., 1.950), etc.

El conocimiento del antígeno E hizo suponer la existencia de su correspondiente alelo, predicción que fué confirmada por MOURANT, en 1.945, al individualizar el anticuerpo anti-e (anti-hr^{''}).

Este anticuerpo, a menudo de actividad incompleta (Ig. G) aglutina los hematies de cerca del 97 % de las personas, por lo cual es verdaderamente raro su hallazgo y desde luego es el más infrecuente de los anticuerpos básicos del sistema Rh-Hr; en nuestra revisión no lo hemos encontrado; es preciso consignar que a veces ciertos auto-anticuerpos responsables de anemia hemolítica pueden ser de especificidad anti-e. De igual manera que anti-E, también anti-e suele estar asociado a otros anticuerpos anti-Rh y así CHEVALLEY, MOULLEC y BOURDEL lo encontraron junto a anti-C.

Su hallazgo significó el destierro del escepticismo existente acerca de la teoría del gen ligado de FISHER-RACE; se ha comprobado el marcado "efecto de dosis" que tiene anti-e.

Por último señalemos que, igual que con el par C-c, el cromosoma puede perder la porción portadora de E-e, lo cual ya lo refirió WIENER, siendo ello particularmente dable en la raza negra (1 % según WIENER); también WIENER observó la pérdida de este par junto a la del par C c en el cromosoma - D -; pero de estos aspectos nos ocuparemos en los epígrafes III y IV (Ver cuadro XXXIV)

I - 4.2 Antígenos alelos de E y e: E^u, E^w, E^T, e^x y eⁱ.

La variante E^u (rh⁽⁺⁾) puede valorarse como una forma débil de E y se pone de manifiesto, con la prueba de Coombs indirecta empleando suero anti-E incompleto, únicamente en el tipo portador del dúo ee, pues el antígeno E enmascara la posible determinación de su forma débil; muy raro de encontrar, está ligado al antígeno D en el fenotipo cDE^u; precisamente en este complejo cDE^u fué comunicado por primera vez por CEPPELLINI, IKIN, y MOURANT, en 1.950, los cuales ya apreciaron que daba algunas, pero no todas, de las reacciones con suero anti-E; el propio CEPPELLINI demostró su herencia directa. En 1.962, O'RIORDAN y cols. informaron de dos familias irlandesas en las que estaba presente en la forma cDE^u. RACE y SANGER han encontrado la variante E^u como una entidad normal en algunas comunidades de Israel.

En 1.925, GREENWALT y SANGER, descubrieron el antígeno E^w que reacciona con un anticuerpo específico, anti-E^w, y con algunos sueros anti-E; en este sentido sería una variante similar a C^w, pero muy rara de encontrar (menos del 0,001 %) y de la que se conocen sólo tres casos y normalmente en la forma cDE^w; el anticuerpo que definió el antígeno E^w había sido causa de enfermedad hemolítica perinatal en un niño CDe/cDE^w, de madre CDe/cde y de padre C^wDe/cDE^w. El antígeno en estudio se denomina en las nomenclaturas de WIENER por rhw² y en la de ROSENFELD por Rh 11.

El factor E^T (Tapinall), en la nomenclatura de ROSENFELD Rh 24, fué descrito por VOS y KIRK como presente en el 70 % de aborígenas australianos y parece tratarse de un componente del antígeno E, si bien no de forma habitual pese a que todas las sangres de caucasionos E positivo con E^T positivo; en consecuencia el anticuerpo anti-E^T está asociado a la manera anti-EE^T, no pudiendo individualizarlos por absorción y apareció en un sujeto E positivo pero E^T negativo. Esta variante E^T, que se hereda directamente, es dable en el genotipo cDE/CDe. Ultimamente RACE y cols han informado de dos casos más de E débil, que tal vez sean

E^T , en nativos australianos y NIJENHUIS lo refiere en indios, papúes y javaneses.

En 1.950, GILBEY, detecta un antígeno en la forma Ee que reacciona igualmente con anti-E y anti-c y que llamó e^x ; al principio, aunque luego rechazó la idea, lo comparó con c^v .

El antígeno e^i fué identificado, en 1.961, por LAYRI - SSE y cols en el 20 % de indios colombianos y asociado a c y D en lo que de ellos llamaron complejo génico cDe^i ; éstos hematies reaccionan además con suero anti-f por lo que sugirieron el genotipo $ccDe^i e^i f$ y el cromosoma $cDe^i f$. Los homocigotos son semejantes a $cD-/cD-$ de los que se diferencian porque dan reacciones débiles con algunos anti-e y, de manera más definitiva, reaccionando fuertemente con suero de personas inmunizadas $-D-/-D-$, el cual no reacciona con hematies $cD-/cD-$.

II) Antígenos compuestos.

Incluimos aquí la serie de antígenos "intercalares" que seguidamente describiremos y que se contemplan en el cuadro XXXIV; estos antígenos son resultantes de la interacción de dos genes vecinos, situados en el mismo cromosoma (posición cis).

Si, como se vió anteriormente, los genes c y e son responsables de la formación de los antígenos c y e, también pueden conjuntamente, cuando están en posición cis dar lugar al antígeno f o ce (hr o Rh 6), presente en hematies $cde (r)$ ó $cDe (R_0)$. El anticuerpo anti-f lo citó por primera vez ROSENFELD, en 1.953, al encontrarlo en el suero de una persona de raza blanca de genotipo CDe/cDE que había recibido sangre. Por tanto anti-f reacciona con complejos del tipo cde , cDe , $cD^u e$, por lo que resulta de suma utilidad práctica para diferenciar genotipos CDe/cDE (f negativo) de CDE/cde (f positivo).

El antígeno V ó ce^S (hrv ó Rh 10) es también un producto del gen r (cde) ó cDe (R_0) que durante largo tiempo se consideró como alelo de f, lo cual no parece cierto y de hecho, aunque no hay nada definitivo, su gen responsable se sitúa en lugar diferente en el cromosoma Rh. Su anticuerpo anti-V, fué descubierto por DeNATALE y colbs, en 1.955, en el suero de un politransfundido de genotipo - cde/cde; anti-V aglutina complejos cde, cDe e incluso cD^u e, ésto es, los mismos que anti-f; ahora bien, el antígeno V predomina en la raza negra (30-40 %) y es infrecuente en blancos (0,5 %), en tanto que al antígeno f le sucede lo contrario. La posible relación de V con el antígeno VS se comentará después .

ALLEN y TIPPETT, en 1.958, publican sobre un sujeto excepcional (señora Crosby) en apariencia Rh negativo cuyos hematies son aglutinados por sueros anti-CD y concluyen con la existencia de un nuevo antígeno compuesto que llaman antígeno G (CD ó rh^G ó Rh 12), ligado a los antígenos C y D, de modo que en el ejemplo citado el sujeto sería Rh aparentemente negativo (cde) y G positivo (rh^G) y escribimos aparentemente toda vez que se vió después que el antígeno G está presente sólo en hematies que contienen antígeno D ó C., ésto es, se comprobó que verdaderamente el antígeno G no es CD en el mismo sentido que f es ce, pues se han encontrado eritrocitos de cualquier persona D positivo con o sin acompañamiento de C positivo; es decir, G se une a C sin D o a D sin C, de modo que está ausente en los cromosomas cDE y cde.

Los individuos que reciben sangre G positivo, siendo ellos G negativo, pueden crear anti-G. El hallazgo de este antígeno es interesante para explicar cómo en múltiples ocasiones mujeres Rh negativo (cde) con hijos Cde/cde ó cDE/cde se inmunizan a anti-C y anti-D; claro es que en estos casos lo lógico es suponer que los anticuerpos son anti-D + anti-G producidos por gestantes D, C y G negativos en respuesta a insultos D y G positivo. El genotipo homocigote rh^G/rh^G es muy poco frecuente y únicamente se conoce hasta ahora un ejemplo (LEVINE y colbs, 1.960); la incidencia de rh^G se estima en el 87 %.

LEVINE y colbs., como se ha expuesto, encontraron el tipo rh^G/rh^G y apreciaron que no daba reacciones con todos los sueros anti-C y sí con algunos a los que llamaron anti- C^G ; ello parece dar a entender que este modelo genético de rh^G sería un antígeno parcial de C, del mismo modo que lo sería rh^S de e, y lo denominaron antígeno C^G (Rh 21); pero ésta cuestión aún es debatida.

Durante algún tiempo la identificación de sangre del tipo Cde (r') fué dificultosa a causa de la irregularidad de los anticuerpos anti-C; hoy día se sabe que estas anomalías obedecen a la razón que sigue: hay dos clases de hematies Cde (r') y una de ellas, la más corriente, reacciona con anti-C y anti-Ce, en tanto que la otra reacciona con anti-C y no con anti-Ce; a este último modelo de hematies se les designa Cde^S (C^n , r'^S o rh'^n) y STURGEON y colbs., en 1.960, ya ratificaron su elevada incidencia en negros, viendo cómo la mayoría de las muestras Cde/cde de esta raza aglutinaban con anti-C pero no con anti-Ce, atribuyéndolo a una diferencia en Ce que estaba representado por el símbolo C^n . Ciertamente este complejo Cde^S debería ser etiquetado como $Ccde^S$, pues se ha confirmado que produce cierta cantidad de C (hr') y entonces resultaría que anti-f (anti-ce) aglutina débilmente las muestras $Ccde^S$.

A continuación nos ocuparemos de tres antígenos compuestos, CE, Ce, cE, los cuales, junto a ce (f), tienen, como se dijo, la característica común de estar ligados directamente a la disposición génica en el mismo cromosoma; efectivamente estos antígenos se comportan como una entidad antigénica única a consecuencia de su posición cis en el cromosoma. Analizemos este aspecto: 1.961, DUNSFORD comunica el descubrimiento del anticuerpo anti-CE y de su normal presencia en el suero anti-E y que reacciona fuertemente con C y E cuando sendos antígenos se colocan en el mismo cromosoma; esto implica que podemos distinguir entre sí los genotipos CDe/cDE (R_1R_2) y CDE/cde (R_zr), de suerte que anti-ce (anti-f) aglutina la última forma y anti-CE la primera; al antígeno CE se le llama también rh o Rh 22.

ROSENFELD y HABER, en 1.958, durante una investigación intrafamiliar notaron que C y e cuando están en posición cis se comportan como entidad única ocasionando el antígeno Ce (rhi ó Rh7) y el suero correspondiente anti-Ce servirá igualmente para hacer distinción entre los diferentes genotipos de C y e.

KEITH y colbs., en 1.965, identifican en una mujer (señora Th) múltipara y politransfundida, un anticuerpo específico que llamaron anti-cE y que aglutinaba hematies con antígeno cE (hri ó Rh 27), esto es, cuando c y E están en posición cis.

El antígeno e^S ó VS (hrvH ó Rh 20) lo pusieron en evidencia, en la raza negra, RACE y colbs., en 1.960, y lo consideraron como alelo de E; el anticuerpo correspondiente sería anti-e^S cuyo denominador habitual es el aglutinar todos los eritrocitos que contienen antígeno V (ce^S) pero como además reacciona con todos los antígenos de la raza negra, Cⁿ (Cde^S), es por lo que actualmente se le conoce por anti-VS.

Por último, en 1.964, HUESTIS y colbs en una mujer del tipo CCDee aislaron un anti-c el cual daba reacción positiva con sólo una parte de hematies c; asimismo la muestra a la que refiere HUESTIS reaccionó con todos los sueros anti-c con excepción del anti-c - citado; estas reacciones desde luego eran más débiles que las observadas cuando se hacen pruebas con hematies c positivo elegidos al azar; por todo ello se sospechó que se trataba de una variante del antígeno c; a esta primera variante, hasta el presente, conocida de - antígeno c (recordemos que c^V es una forma peculiar del antígeno C) se la llamó antígeno Deal (c-like ó Rh 26).

III - Formas de transición, deprimidas o complejos génicos.

Desde hace más una década y en plurales informes se viene dando cuenta de la aparición de hematies con depresión de

uno o más antígenos Rh; la mayoría de este tipo de hematies no ha recibido anotación específica y se describen mediante colocación entre paréntesis del antígeno deprimido; por ejemplo, (c) D (E), donde c y E estarían deprimidos. Se supone que estos antígenos débiles o deprimidos pueden ser formas de transición o mutantes de C, D ó E y la influencia depresora, con excepción del complejo génico r^M , se debería a una posición cis de un gen inhibido o del alelo de C, D ó E.

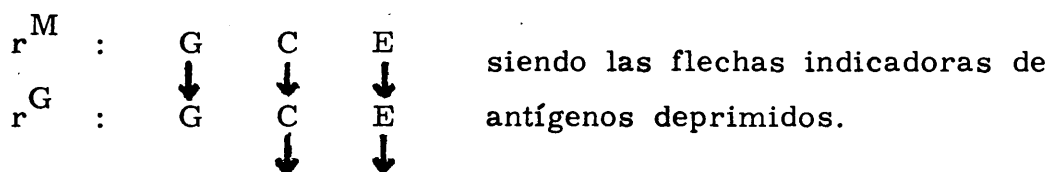
Comentaremos primeramente los complejos génicos r'^n ("Negro r"), r^L , r^G y r^t . En 1.960, ROSENFELD y colbs. describen en una familia de raza negra un D normal junto a una reacción débil con anti-C y anti-e y a este complejo génico lo denominaron r'^n o (C) D (e) ó "Negro r"; posteriormente BROMAN y colbs. encontraron la misma depresión en seis suecos no emparentados entre sí.

METAXAS y METAXAS-BUHKER, en 1.961, citan un complejo que se diferencia del anterior por tener deprimidos c y e junto a un D normal, de manera que anti-c y anti-e apenas si aglutinaban las muestras de sangre y en cambio sí eran aglutinadas por anti-f (anti-ce); dado que el caso se dió en la "familia L" se le llamó r^L .

El complejo génico r^G está muy emparentado con el antígeno compuesto G (CD), el cual, como se sentó ya, es un aparente genotipo cde (con D y/o C) aglutinable por anti-G y en ocasiones por anti-f; pero se diferencia de él en que como apuntan LEVINE y colbs. "carece de determinantes antigénicos, pero poseen un C^G (Rh 21), un determinante antigénico parecido a C"; es decir, no se trataría de un Rho nulo (--- /---) pues su cromosoma es portador de un probable antígeno parcial de C (C^G).

El complejo r^M fué descubierto por TIPPETT y colbs.,

en 1.961, en la sangre de la señora M.R.; al principio parecía similar al referido por ellos mismos en la señora Crosby (antígeno G), pero pronto se comprobó que se distinguen porque el r^M tiene un G deprimido y cierta clase de C deprimido y además cierta clase de E también deprimido; es decir, no es como el r^G en que hay ausencia de antígenos G y E ni como el antígeno G que nunca se dá en el cromosoma cdE ; de otro modo podría anotarse el complejo r^M como (C) d (E). TIPPETT y colbs. ilustraron gráficamente las diferencias entre r^M y r^G así:



El complejo r^t ó cd^t lo dieron a conocer TIPPETT y DUNSFORD, en 1.963, y se caracteriza por producir antígeno c deprimido, algo de e y de f y se diferencia de r^L en que éste aglutina con anti-f (anti-ce) y r^t no lo hace pues también tiene algo de f deprimido; podríamos darle la anotación (c) d (e).

Continuando con el número de posibilidades de antígenos deprimidos, KORNSTAD y ØYEN refieren un complejo génico en que c y E están deprimidos; este tipo de complejo puede darse con D o d, ésto es, puede ser (c) D (E) ó (c) d (E).

SALMON y SY BABA en una negra africana describen el complejo (C) D-, cuyos atributos son el tener un D normal, no exaltado como en - D - / - D -, C deprimido, G normal y ausencia de los antígenos E y e.

ROSENFELD, en 1.961, refiere en una madre y su hija, ambas de Puerto Rico, un V deprimido, que simbolizaron V^u por las razones siguientes: tenían un antígeno V (ce^S) que reaccionaba con algunos, pero no todos, los sueros anti-V y muy débilmente; madre e hija eran D^u positivo y en la hija el G estaba deprimido pues la dotación cromosómica paterna fué CDe.

IV). Tipos defectivos o supresiones.

Se trata de hematies a los que falta parte o todos los antígenos Rh iniciales y que, en principio, parecía deberse a supresión o falta de un segmento cromosómico; estas delecciones pueden afectar al locus C **6 6 AL E** e, e incluso la pérdida podría ser de ambos locus y aún más de los tres locus C c, E e y D d. Actualmente se considera que estos defectos están en relación con alteraciones de la membrana eritrocitaria y defectos de síntesis en las sustancias antigénicas.

RACE y colbs. (1.950 y 1.951) hallaron por primera vez unos hematies que no eran aglutinados con Anti-C, anti-c, anti-E ni anti-e, siendo su contenido en D más elevado que en las células Dd ó DD sin delección, tan es así que reaccionan con antisuero anti-D salino y anti-D incompleto (Ig. G); HUGHE-JONES encontró en los hematies CDe/cDE 37.000 lugares antigénicos para el D, en tanto - que en cuatro muestras D - - /D - - halló cifras entre 110.000 y 202.000 de receptores antigénicos D; es más, observó que en los he^umaties CDe/cDE la suma de todos los receptores antigénicos del sistema Rh era de 120.000 lugares, que coinciden con los encontrados en sujetos D - - /D - - ; ésto último sugiere que toda la sustancia precursora se ha convertido en antígeno y que no quedan lugares "va^ucíos" para la expresión de los otros antígenos Rh.; los referidos autores llamaron a esta supresión - D - y posteriormente se han comunicado múltiples nuevos casos por WALLER (1.953), BUCHANAN y Mc INTYRE (1.955), MOORE y colbs. (1.960), CLEGHORN (1961), UNGER (1.964), HEIKEN y GILLES (1.966), etc. Si bien puede presen^utarse en forma heterocigota, ésto es, cde/ - D -, en alto número de situaciones son homocigotos (- D - / - D -) por unión consanguínea de los progenitores; lógicamente las personas portadoras del tipo - D - / - D - están muy expuestas a inmunizaciones de los antígenos ausentes, pues excepto los antígenos D y G carece de los demás; WIENER rechazó el concepto de eliminación antigénica y lo explica co^umo consecuencia de una variación en la estructura química del antígeno D, manifestada por un "super-Rh" creado por el alelo R^o. Recientemente, 1.977, BUÑUEL ha aportado un nuevo caso de -D-/-D-

en una mujer inmunizada a los antígenos C y e.

El tipo defectivo $C^W D$ - lo revelaron GUNSON y DONOHUE, en 1.957 y 1.958, al estudiar una gran familia con cinco miembros homocigotos $C^W D$ - / $C^W D$ -; se diferencia del - D - / - D - en que aquél tiene antígeno C^W , siendo los demás rasgos comunes; pero llama la atención que en la forma $C^W D$ - las aglutinaciones por anti- C^W son de menor intensidad que lo son en el cromosoma $C^W De$; podría suponerse, y sin embargo no es así, que con anti-C, dado que gran número de estos anticuerpos contienen anti- C^W , reacciona la forma $C^W D$ -.

En 1.960, TATE y cols. refieren en una familia de raza blanca, sin mezcla, tres miembros homocigotos para la delección E e y cuya anotación corresponde a cD - y para WIENER, el cual halló otro caso en una mujer de Puerto Rico, Rh^u ; estos hematies son portadores de D exaltado, como en - D -, les falta E y e y c y f están deprimidos.

Pero de todos los tipos defectivos, el más interesante es el llamado Rh nulo (- - - / - - -); este fenotipo fué descrito, en un aborigen de Australia, por VOS y cols., en 1.961, si bien en 1.958 lo sospechó; sus características son la ausencia de todos los antígenos Rh identificados hoy día; el estudio de su transmisión hereditaria ha demostrado que hay dos tipos de Rh nulo, que luego analizaremos. Primero hagamos un poco de historia: HENNINGSEN (1.958) descubre un extraño caso de herencia, probada la legitimidad paterna, en el que una madre de fenotipo ccDEE tenía una hija CCDee, siendo la abuela materna de fenotipo ccdee; como es obvio la transmisión de todos los caracteres antigénicos estaba fuera de la lógica genética, por lo cual se aceptó que la abuela sería del tipo cde/ - - -, la madre cDE/ - - - y la nieta CDE/ - - -. Después VOS y cols. hallaron una muestra de sangre exenta de antígenos Rh conocidos (- - - / - - -), lo cual es confirmado por ISHIMORI y HASEKUTA, y luego por diversos observadores.

La explicación primera al Rh nulo fué la siguiente: recor

demostramos que la casi totalidad de las personas poseen sustancia o antígeno LW, que justificaba el "efecto de MURRAY-CLARK" ya descrito al estudiar el antígeno D, que nos permitía diferenciar el anti-D humano del anti-LW (anti-D de cobaya) y razonar la aglutinación de casi todos los hematíes de recién nacido, positivo o negativo, con anti-LW; pues bien, se admite que hay dos modelos de Rh nulo; en el primero los progenitores transmiten cromosomas Rh normales pero en el descendiente hay incapacidad para sintetizar la sustancia precursora de los antígenos LW y Rh, pues son homocigotos $X_{O}r / X_{O}r$ (ver genética del sistema Rh); en el segundo modelo, que corresponde al citado por ISHIMORI, de Rh nulo, igualmente está desprovisto de antígeno LW, pero los sujetos afectados han recibido y transmitido un cromosoma Rh "silencioso", lo cual ha creado conflictos de exclusión no sólo de paternidad sino también de maternidad.

Pero la complejidad de estos fenotipos - - - / - - - es mayor aún, toda vez que los antígenos S, s y U están alterados en su expresividad, en los del primer modelo de Rh_O nulo, en tanto que todos los otros antígenos son aparentemente normales; de otro lado se aprecia en estos hematíes, vida media recortada y una resistencia globular disminuída, posiblemente debido a un defecto de la membrana celular y el hecho de que los antígenos Rh no aparezcan en la superficie del eritrocito puede ser motivado por el mencionado defecto; ésto hace suponer que los antígenos de grupo sanguíneo participan en la formación e integridad de la membrana eritrocitaria. Naturalmente la vulnerabilidad de las personas portadoras de este fenotipo es la más alta del sistema Rh ya que pueden sensibilizarse a cualquiera de los anticuerpos anti-Rh; queda claro que estos hematíes no reaccionan con anti-D, anti-C, anti-E, anti-c, anti-e, anti-f (ce) ni anti-Ce (rhi).

Finalizamos este extenso apartado dejando constancia de que las sustancias antigénicas propias del sistema Rh están situadas en la misma membrana del hematíe y no se pueden eluir. Para KNOX

(1.966) estos antígenos se disponen de manera que forman una red hexagonal y con un número variable de receptores antigénicos según el genotipo en el que se configure el antígeno. ROCHNA y HUGUES-JONES empleando yodo radioactivo marcado con antiglobulina humana calcularon el siguiente número de receptores:

genotipo probable:	nºreceptores D:
CDe/cde	9.900 á 14.600
cDe/cde	12.000 á 20.000
cDE/cde	14.000 á 16.600
CDe/CDe	14.500 á 19,300
cDE/cDE	15.800 á 33.300
CDe/cDE	23.000 á 37.000

Estudios diversos (BOYD, KOUT, HACKEL, etc) han permitido demostrar que las pruebas serológicas habituales que se usan para la evidenciación de los antígenos pueden inhibirse; así los antibióticos, estreptomina, dehidroestreptomina, neomicina y otros, ejercen una acción competitiva, inhibiendo tanto a los anticuerpos incompletos como completos: también son inhibitorias la rutinosa, D-glucosa, L-glucosa y L-malosa, así como los derivados del R.N.A., las fosfatasas y ciertos fosfatos orgánicos. Pero esta inhibición no es igual para todos los antígenos; verbi-gracia, la riboflavina inhibe mejor otros sueros que el anti-D, y lo mismo sucede al fosfato de fenolf-taleina que es más activo frente a E y G; en cambio, la estreptomina y rutinosa inhiben más activamente a los antígenos D y C que al antígeno E.

Genética y herencia del sistema Rh-Hr.

Por imperativos de la descripción algunos conceptos genéticos fueron desarrollados en el anterior apartado y evitaremos su repetición.

La genética del sistema Rh-Hr no está claramente definida

aún; no obstante, las varias hipótesis emitidas en este sentido, las relacionamos seguidamente:

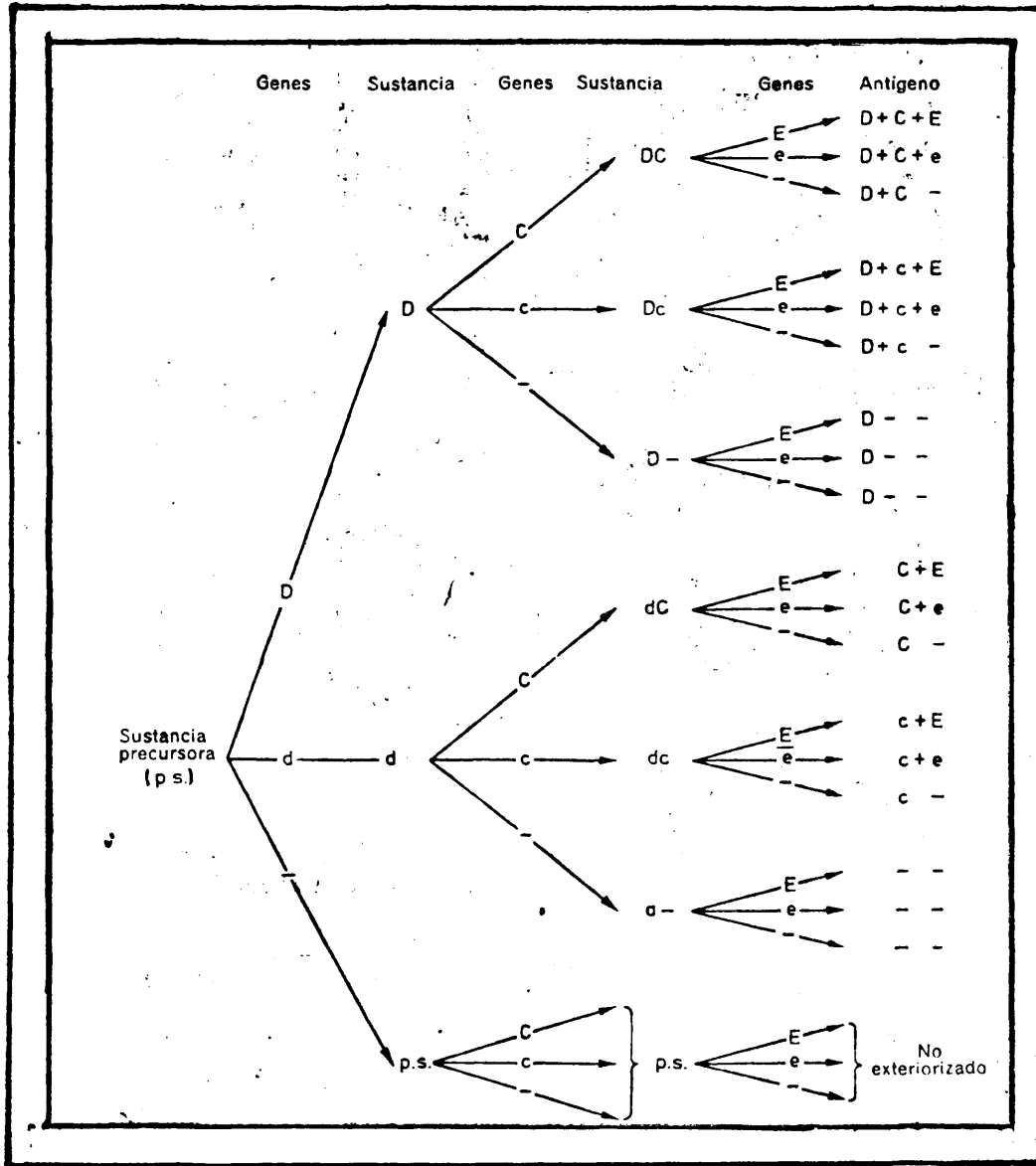
- 1) Teoría de la síntesis escalonada de BOETTCHER.
- 2) Teoría del alelismo múltiple de WIENER-WEXLER.
- 3) Teoría del gen ligado de FISHER-RACE.
- 4) Teoría de la serie continua de HELMOLD, y
- 5) Teoría del pseudoalelismo de LEUER.

- 1) Teoría de la síntesis escalonada de Rh de BOETTCHER.

El esquema del control genético de los antígenos del sistema ABO nacido en los trabajos de MORGAN y WATKINS y de CEPPELLINI, motivó la base de la teoría de BOETTCHER, en 1.964 (Figura X) sobre el concepto de los antígenos Rh; según estos autores las sustancias Rh, como las A, B y H, son complejos de hidratos de carbono y polipéptidos y los tres genes principales controlan, cada uno, la especificación de una sola enzima, actuando sobre una sustancia precursora (S.P.). Es decir, la S.P. pasa a la enzima específica D y se transforma en sustancia D; sobre ésta actuaría después la enzima específica C y/o' c y se convertiría en CD ó cD y luego a la enzima específica E y se transforma en E, de modo que el producto de una enzima se convierte en el sustrato de la enzima siguiente; ello sucede porque las enzimas específicas de los genes se disponen en forma espacial unas junto a otras en el tejido eritropoyético. De acuerdo con este concepto si falta la síntesis de E y/o' e se forma DC ó Dc; si la interrupción se produce después de formarse D, sólo se constituye -D- y si la detención de la síntesis tiene lugar en el primer estadio se produce un Rh nulo (- - - / - - -); las restantes posibilidades se representan en la figura X.

Esta hipótesis explicaría algunas de las complicaciones, ya referidas, del sistema Rh-Hr e incluso la posible evolución escalonada en la complejidad de sistema Rh desde el mono Rhesus hasta el "homo sapiens" y naturalmente la aparición de los nuevos genes se debería a sus duplicaciones y triplicaciones.

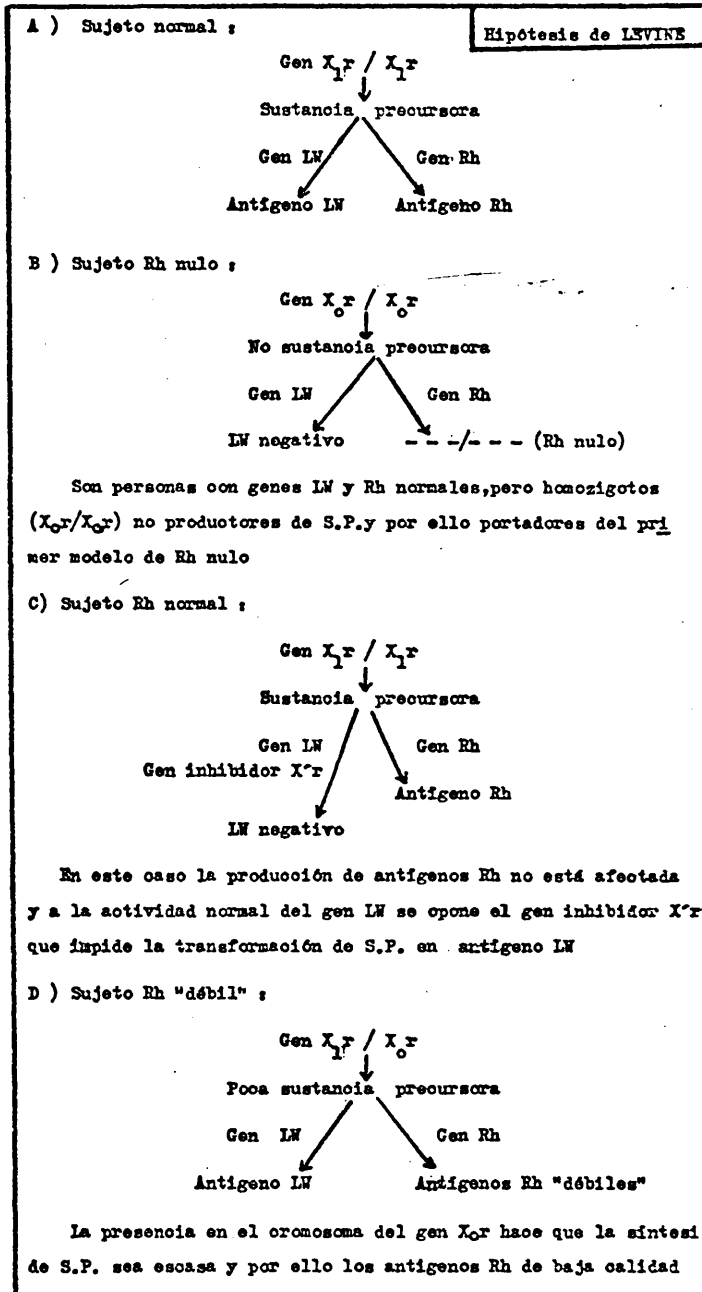
Síntesis escalonada de los antígenos Rh
(Teoría de BOETTCHER)



Tomado de F.Schwarzfischer y W.Helmbold

Figura X

Figura XI (Adaptada de Goumenand y Delmas-Marselet)



Este modelo de BOETTCHER puede ampliarse con la hipótesis de LEVINE y cols. (1.964), según la cual, de entrada, parece que el gen LW es independiente de los genes Rh, pues personas desprovistas de antígeno LW tienen antígenos Rh normales; sin embargo, entre los dos sistemas hay una relación funcional toda vez que sujetos llamados Rh nulo, es decir, carentes de todos los antígenos Rh igualmente están desprovistos de antígeno LW; en consecuencia podría concebirse que los antígenos Rh y LW son sintetizados a partir de una sustancia precursora (S.P.), cuya síntesis a su vez es dirigida por el gen X_1r (figura XI-a) de modo que las personas con X_0r (alelo de X_1r) no producen S.P. y por ello son incapaces de sintetizar S.P., siendo LW negativo y Rh nulo (figura XI-b); ahora bien, sobre S.P. actuarían los genes LW y Rh independientemente, pudiéndose dar el caso de personas LW negativo y antígenos Rh normales (figura XI-c), por existir un gen Xf inhibitor del gen LW; por último en el sujeto que tiene exígua cantidad de S.P., por ser heterocigoto (X_1r/X_0r), puede manifestarse un LW normal y antígenos Rh débiles (figura XI-d). Todas estas variantes se desarrollan en la figura XI.

2) Teoría del alelismo múltiple de WIENER-WEXLER:

En 1.956, estos dos investigadores dicen que los genes responsables de los diferentes antígenos ocupan un sólo lugar en el cromosoma y que en éste locus habría una serie de alelos múltiples; esto es, el locus estaría ocupado por cualquier alelo del sistema Rh; WIENER, distingue, asimismo, los aglutinógenos, que serían atributos intrínsecos de los eritrocitos, de los factores sanguíneos, que serían atributos extrínsecos; o sea, aquellos son la propia estructura molecular del grupo determinante, en tanto que los últimos se referirían a la especificidad serológica, de tal modo que un único gen gobierna la formación de un aglutinógeno, pero cada aglutinógeno se caracteriza por más de un factor sanguíneo (figura XII).

Posteriormente, a medida que se descubrían nuevos anticuerpos específicos, amplió WIENER su concepto del sistema Rh, admitien

do la existencia de diez genes alelos, cada uno de los cuales gobierna a un aglutinógeno y éstos a su vez un cierto número de factores sanguíneos.

Designación genética de WIENER
(aglutinógenos y factores sanguíneos correspondientes)

WIENER (gen)	FISHER-RACE (genes)	Aglutinógenos correspondientes	Factores sanguíneos
r	cde	rh	hr', hr'', hr
r'	Cde	rh'	rh', hr''
r' ^w	C ^w de	rh' ^w	rh', rh ^w , hr''
r''	cdE	rh''	rh'', hr''
r _y	CdE	rhy	rh', rh''
R ₀	cD	Rh ₀	Rh ₀ , hr', hr'', hr
R ₁	CDe	Rh ₁	Rh ₀ , rh', hr''
R ₁ ^w	C ^w De	Rh ₁ ^w	Rh ₀ , rh', rh ^w , hr''
R ₂	cDE	Rh ₂	Rh ₀ , rh'', hr'
R _z	CDE	Rh _z	Rh ₀ , rh', rh''

Cuadro XXXVI

Por consiguiente para WIENER los factores sanguíneos son transmitidos por una serie de diez pares "standard" de genes que dán lugar a cincuenta y cinco genotipos posibles; un ejemplo de la multiplicidad de los factores que identifican a un aglutinógeno es el R₁ cuyo aglutinógeno es el Rh₁ que vendría dado por once factores sanguíneos: Rh₀, rh', rhi, Rh^A, Rh^B, Rh^C, Rh^D, rh^G, hr'', hr^s y Hr.

3) Teoría del gen ligado de FISHER-RACE.

FISHER y RACE, en 1.948, en contraposición con WIENER, distinguen la existencia no de un gen, sino de varios genes en un

REPRESENTACION SIMPLIFICADA DE LAS TEORIAS DE WIENER Y DE FISHER Y RACE (esquema)

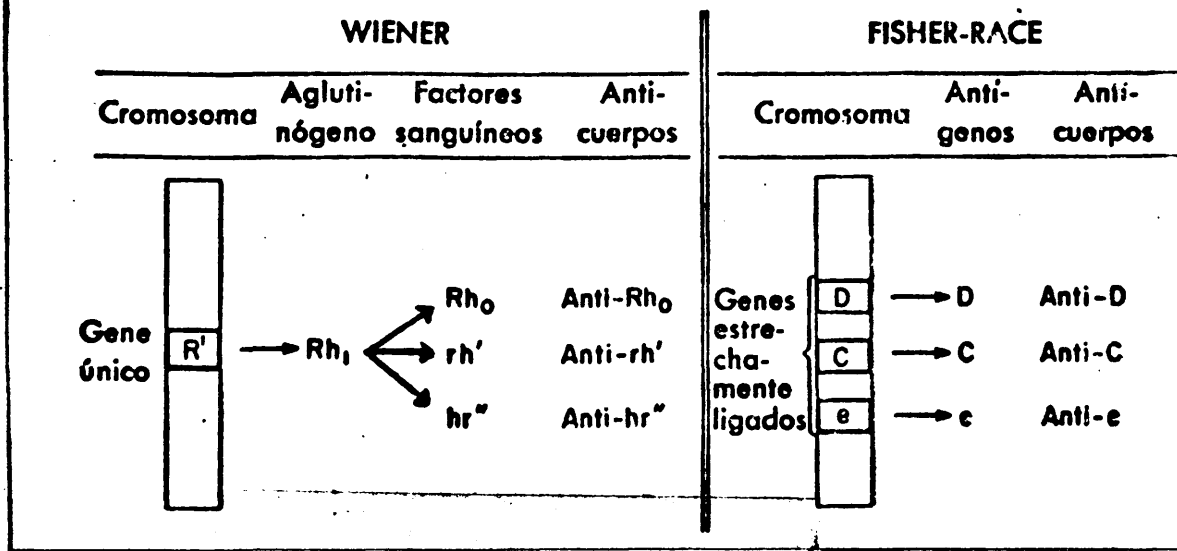


Figura XII

INTERCAMBIO DE GENES (esquema)

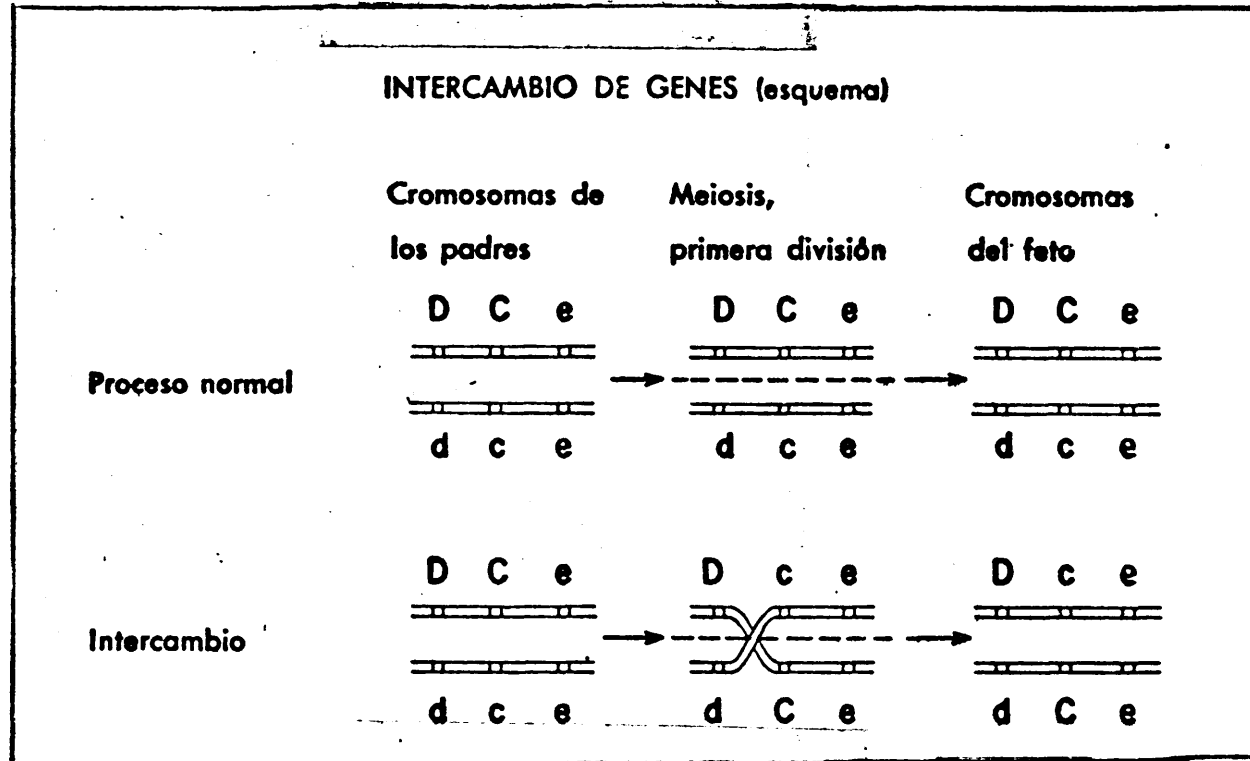


Figura XIV

mismo cromosoma ligados estrechamente entre sí, determinando a su vez diferentes expresiones antigénicas (figura XII). Estos genes, se heredarían, por lo general, como una unidad, pues dada su extrema proximidad rara vez en el proceso del entrecruzamiento (crossing over) excepcionalmente podrían ser separados; se admite que en la actualidad son cinco fundamentales alelos los cuales ocupan cinco locus diferentes y dan lugar a cinco antígenos y variantes alélicas distintos: D y d, C y c, E y e, f y F y V y v y que además se sitúan en el cromosoma en el orden mencionado. En la siguiente figura ilustramos los cinco locus del sistema Rh y los alelos o variantes antigénicas que los ocupan.

D	D ; D ^u ; d ; D ^w
C	C ; C ^u ; c ; C ^w ; C ^x ; C ^y
E	E ; E ^u ; e ; E ^w ; E ^T ; e ^x ; e ⁱ
f	f (ce); F
V	V (ce ^s); v

Figura XIII

Cuando aún no eran conocidos los antígenos f y V, FISHER y RACE entendían que cada cromosoma tenía una tripleta génica cuyas combinaciones podían dar lugar a ocho diferentes formas:

Cde; cDe ; cdE ; CDe; CdE; cDE; CDE y cde y puesto que cada individuo hereda un cromosoma materno y otro paterno, los diferentes genotipos que se forman alcanzan la cifra de treinta y seis (ver cuadro XXX). La inclusión de C^w eleva este número a cincuenta y cinco (cuadro XXXI).

Para explicar los genotipos más infrecuentes, que por la teoría de WIENER se justificarían por mutación genética, FISHER y RACE suponen que pueden ocurrir por cruzamientos de los cromosomas paternos más corrientes (figura XIV); ésto es, CDe intercam

bia genes con cde o bien el intercambio de CDe es con cDE y por otra parte cDE intercambiaría con cde, de modo que en cada crossing-over se formarían por un lado cDe y por otro Cde, CDE y cdE, integrando respectivamente los genotipos cDe/Cde, cDe/CDE y cDe/cdE, siendo la frecuencia de cDE = Cde + CDE + cdE.

La existencia de otros antígenos, como pueden ser C^W , D^W , E^W , etc., ya hemos señalado que la justifican como alelos correspondientes a C, D y E y por ende situados en el mismo locus; los antígenos compuestos serían consecuencia, como se dejó sentado en el apartado anterior, de una interacción de genes situados en el mismo cromosoma (posición cis).

Terminemos apuntando que para algunos autores la teoría de FISHER y RACE es más recomendable por su sencillez, en tanto que la expuesta por WIENER y WEXLER está más próxima de la realidad genética.

4) Teoría de la serie continua de información genética de HELMOLD:

Nació para explicar la genética de los llamados antígenos compuestos, G, Ce, cE, CE y ce (f). FISHER y RACE razonan la existencia de G por la presencia de un nuevo alelo en el locus D o en el C y WIENER lo relacionan con el alelo r^G en el locus Rh que regula el aglutinógeno rh^G en los factores hr' , hr'' y rh^G . En contraposición con estas dos creencias HELMOLD, en 1.959, admite que el fragmento cromosómico intermedio entre C y D es el responsable de la génesis de G, de manera que habría un entrecruzamiento justamente a nivel de ese fragmento intermedio con transporte del mismo al otro cromosoma y los cromosomas resultantes Cd y cD contendrían cantidades equivalentes de material genético informativo de G. Damos la explicación gráfica en la figura XV. Esta misma razón valdría para el segmento cromosómico entre C y E y aclararía la existencia de los otros antígenos compuestos citados al principio.

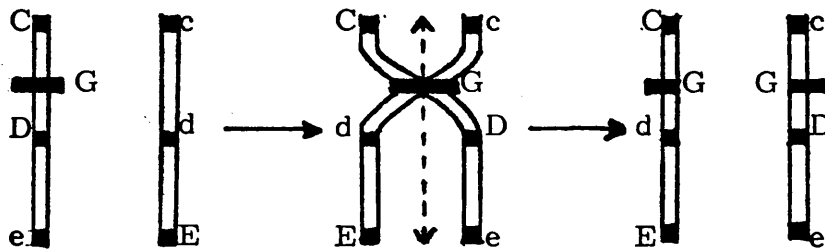


Figura XV

5) Teoría del pseudoalelismo de LAUER:

En 1.964, LAUER, tampoco estaba de acuerdo con la hipótesis de FISHER y RACE y WIENER y WEXLER para explicar la genética de los antígenos compuestos y para ello aceptó cuatro dobletes antigénicos correspondientes a los cuatro genes alelos de sus propios hematies Ce, cE, CE y f; la sustancia fundamental se produce en el mismo cromosoma mediante un gen no alelo (pseudoalelo) y a partir de la síntesis del antígeno D actuarían los cuatro genes referidos más arriba, apareciendo junto a la sustancia D los antígenos Ce, cE, CE y ce (f).

Comentadas las cinco teorías genéticas del sistema Rh, nos ocuparemos seguidamente de la herencia de los antígenos; el número de combinaciones posibles es muy elevado y vaya por delante que a efectos de la paternidad, igual que sucede con los restantes sistemas de grupo sanguíneo, salvo muy contadas ocasiones, no se puede atribuir y sí excluir; por caso de padres homocigotos a los mismos factores sanguíneos no puede nacer un hijo heterocigoto; por ejemplo, madre CDe/CDe y padre CDE/CDe el hijo nunca podrá ser cde, asimismo de padres homocigotos negativos a los tres genes principales (cde/cde) el hijo no podrá ser Rh positivo respecto a ninguno de los tres antígenos, es decir, no tendrá C, ni D, ni E. En cambio, como se plasma en la figura XVI-c el hijo puede ser Rh negativo (cde/cde) cuando un progenitor es Rh negativo homocigoto (cde/cde) y el otro, Rh positivo heterocigoto (CDe/cde). Como los ejemplos serían múltiples, para explicar la transmisión -

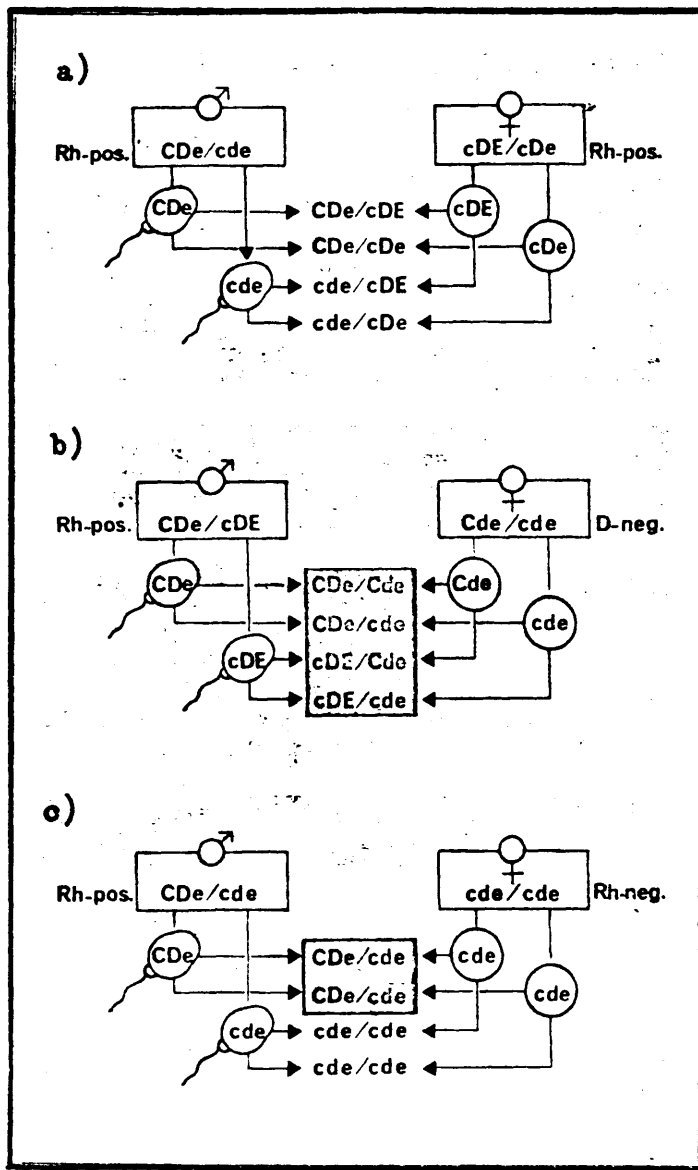


Figura XVI .- Explicación en el texto

(Tomada de "serología de los grupos sanguíneos")

(Ch. Mueller - Eckardt)

hereditaria de los antígenos Rh nos remitimos a la figura XVI, que es lo suficientemente clara como para ahorrar una mayor extensión de este apartado.

En la mencionada figura XVI se ve que en el primer cruce (figura XVI-a) todos los herederos son Rh positivo, con un 50 % de D homocigotos y un 50 % de heterocigotos (Dd); en la figura XVI-b también todos los herederos son Rh positivo y heterocigotos respecto a D (Dd); en la figura XVI-c se aprecia que la mitad de los descendientes son Rh positivo heterocigotos (Dd) y la otra mitad Rh negativo (dd). - Una condición, pues, básica, es que para ser negativos con relación a un determinado antígeno el sujeto tiene que ser homocigoto respecto a ese antígeno, pues de ser heterocigoto en su genotipo, por la dominancia de C, D y E, su fenotipo sería positivo.

Recordemos que en el sistema Rh hay más de treinta antígenos y anticuerpos (cuadro XXXIII), los cuales distinguen cerca de cuarenta complejos génicos; pues bien, en el cuadro XXXVII representamos algunos de estos complejos génicos; con ello terminamos el apartado de genética y damos una consideración sobre el punto de vista actual del sistema Rh.

<u>Complejos génicos</u>		<u>Antígenos</u>				
R ⁰	cDe	D	G	c	ce	e
R ¹	CDe	D	G	C	Ce	e
R ²	cDE	D	G	c	cE	E
R ^Z	CDE	D	G	C	CE	E
r	cde	-	-	c	ce	e
r'	Cde	-	G	C	Ce	e
r''	cdE	-	-	c	cE	E
r ^y	CdE	-	G	C	CE	E
R ^{1w}	C ^w De	D	G	C ^w	?	e
R ^{ou}	cD ^u e	(D)	(G)	c	ce	e
r ^v	cde ^s	-	-	c	ce ^s	e ^s
R ^{ov}	cDe ^s	D	G	C	ce ^s	e ^s
r ^{'s}	Ccde ^s	-	G	Cyc	ce	e ^s
	- D -	D	G	-	-	-
	C ^w D -	D	G	(C ^w)	-	-
	cD -	D	G	(c)	(ce)	-
r ^G	(C)d(e)	-	G	(C)	-	(e)

Cuadro XXXVII (tomado de RACE y SANGER)

Sistema Rh y las enfermedades

Sobradamente es conocida la relación entre el sistema Rh-Hr y la **etiopatogenia** de la enfermedad hemolítica perinatal, descrita en 1.938 por DARROW. De ella, por supuesto, no nos ocuparemos por estar fuera de los límites de esta tésis. En 1.953, LAWLER y colbs. encontraron cierta relación entre los genes Rh y la eliptocitosis, hipótesis que dos años después fué ractificada por MORTON al investigar los árboles genealógicos de catorce familias, sugiriendo éste último autor que la existencia de eritrocitos ovales depende de dos factores dominantes, uno de los cuales estaba ligado al cromosoma Rh, llegando incluso a calcular que el gen de la eliptocitosis está ligado al gen Rh con una frecuencia de recombinación de 0,033 a 0,022.

Según GOODAL, LAWLER y STEPHEN, el gen de la eliptocitosis y el complejo génico cDE están en el mismo cromosoma; es decir, el gen R_2 es el portador de la aludida enfermedad.

Aunque son múltiples los intentos de relacionar el sistema Rh con la patología, hasta el presente, fuera de lo descrito, no se han hallado nuevos nexos con otras enfermedades.

Distribución geográfica del sistema Rh. -

Al referirnos al sistema ABO comentábamos la invariabilidad distributiva de los caracteres genéticos según las razas y cómo las mezclas de las mismas no han podido desligar los ancestrales vínculos antigénicos del hombre; constatábamos cómo sobre un planisferio podían apreciarse las diferencias de grupos sanguíneos entre el Este y Oeste de la tierra. Pues bien, estas expresiones son igualmente válidas al sistema Rh; ahora bien, el sistema que estamos estudiando ofrece, como hemos visto. multiplicidad de antígenos y complejos génicos y de aquí el que no podamos hacer una distribución única, sin valoraciones parciales. Verbi-gracia, el antígeno D^W es muy dable - en negros y en blancos es muy infrecuente; el antígeno C^W , en latvios, finlandeses y lapones, alcanza porcentajes del 7 al 9 %, en tanto que fuera de estas poblaciones oscila entre el 2 y 3 %; el antígeno E^T se dá en forma pura en cerca del 7 % de los aborígenes aus-

tralianos; el antígeno e^i aparece en el 20 % de indios chibchas colombianos; el antígeno compuesto V (ce^S) en blancos sólo está presente en el 0,05 % y en negros llega al 30-40 %, en tanto que el antígeno f (ce) le sucede lo contrario y al antígeno VS (e^S) es casi exclusivo de la raza negra; otros complejos génicos son propios de negros, caso del r^n ("Negro r") y otros son familiares, como el r^L .

Hechas estas consideraciones, la frecuencia de los antígenos básicos del sistema Rh es la que sigue:

El antígeno Rh_0 (D) suele estar presente en el 85 % de las personas de Europa y América, con las excepciones que más adelante - consignaremos, pero según se viaja hacia los países orientales las frecuencias de Rh_0 (D) se elevan hasta el 92 % y 100 %. En medio de estas generalidades se aprecia cómo en la raza negra y mestiza americanas, los Rh_0 (D) llegan al 90-95 %; en Europa su incidencia es menor en el norte del Continente y va incrementándose a medida que se avanza hacia el sur, llegando a adquirir valores próximos a los africanos (80-90 %). Llama poderosamente la atención la existencia de ínsulas donde el número de Rh_0 (D) positivo está notablemente disminuído; tales zonas son en Europa, el País Vasco (España), bereberes del Atlas y Utrech (Holanda) y galeses, en los cuales los porcentajes del Rh_0 (D) negativos balancea entre el 25 y 40 %.

De manera esquemática podemos transcribir:

- Vascos, Bereberes y Galeses: el 25-40 % son Rh_0 (D) negativo.
- Blancos y Caucasianos: cerca del 15 % son Rh_0 (D) negativo.
- Negros y Chinos: del 2 al 8 % son Rh_0 (D) negativo.
- Mestizos mejicanos: alrededor del 5 % son Rh_0 (D) negativo.
- Mongoles: del 0 al 2 % son Rh_0 (D) negativo.

El antígeno C, cuya estimación global es del 70 %, también - está sujeto a fluctuaciones étnicas muy parecidas a las del D, lo - cual no es extraño, pues como ya se ha comentado, suelen estar aso

ciados en el cromosoma CDe; por ello en Australia y en Asia oriental (China e Indonesia) se dán los mismos porcentajes, para ir disminuyendo hacia la India (60-70 %) y territorios islámicos (45-60%); en Africa meridional sus valores son inferiores al 10 % y si ascendemos hacia las costas mediterráneas se observan diferentes escalonamientos que desde el 10-20 % alcanzan frecuencias comprendidas entre 40-45 % en las referidas costas.

En Europa, la Península Ibérica, Italia, Yugoslavia, Grecia y países balcánicos, el antígeno C cobra cifras del 45-50 %. En Francia, Reino Unido, Alemania Oriental y países escandinavos los porcentajes son algo menores (40-45 %). Hay dos claras excepciones, - una localizada en Andalucía (España) con valor del 40-45 % (?influencia norteafricana?) y la zona más septentrional de Suecia y Noruega con el 50-60 % de antígeno C.

En la casi totalidad de América, el antígeno C está presente - en el 50-60 % de la población; pero aquí también se aprecian dos zonas disidentes de la generalidad, siendo una el Brasil oriental con el 60-70 % y la otra el noroeste de EE. UU. de América del Norte con el 30-40 %.

En Groenlandia el antígeno C llega sólo al 70-80 %.

La frecuencia del antígeno E está calculada globalmente en el 30 %. En América del Norte y Sur se estima en un 40-50 %, pero allí donde el C presentaba diferencias, el antígeno E también se modifica y así en la mencionada zona del Brasil oscila entre el 30-40 % y en la excepción norteamericana supera el 50 %. En América Central está entre el 20 y 40 %.

En Groenlandia queda entre el 20 y 30 %.

El antígeno E en Europa y Asia meridionales son relativamente poco incidentes con un 10-15 %, pero en Japón alcanza el 40 % ;

la India y la Península Arábiga adquieren valores similares a la casi totalidad de Africa, ésto es, por debajo del 10 %. En Europa del Norte, incluido el Reino Unido, los porcentajes del antígeno E son iguales que en Australia (15-20 %).

En cuanto a los cromosomas o complejos génicos, en Europa Central CDe y cde alcanzan frecuencias máximas del 40 %, seguidas por cDE con el 14-16 %; el complejo cDe viene a ser del 1 % y el CDE del 0,2 %. En Europa meridional desciende la incidencia de cde y aumenta la de CDe, si bien en los vascos el cromosoma cde es más frecuente que el CDe.

En Africa cDe, entre los negros, asciende al 20 % y le siguen los cromosomas CDe, cDE, Cde y CD^ue.

En Asia hay casi ausencia del complejo cde, en la zona oriental, dando en cambio altas frecuencias de CDe, seguida de cDE y las formas cDe y CDE.

En el lejano Oriente, allí donde las personas Rh₀ (D) negativo son francamente raras, el complejo más frecuente es el cDE, aunque también, pero en menor escala, se encuentran CDe, cDe y CDE.

En América hay cierta igualdad entre los cromosomas CDe y cDE.

Material y métodos de Laboratorio.

Las muestras de sangre analizadas pertenecían a enfermos ingresados en el Hospital Clínico de San Carlos y hemodonadores, según los casos, todos de origen español, adultos, de ambos sexos, no emparentados entre sí, salvo las excepciones que en su lugar referiremos, y de dispar procedencia dentro de nuestras fronteras.

Los estudios se efectuaron el mismo día de la extracción de la muestra.

Los receptores antigénicos del sistema Rh-Hr, como los del Kell y Duffy, se sitúan principalmente en las concavidades de la superficie del hematie y en número aproximado de 10.000 a 30.000; de otro lado los anticuerpos específicos que nos sirven para su identificación son, generalmente, de naturaleza inmune (Ig. G.); estas moléculas de Ig. G. como se recordará, disponen de dos puntos de enlace para anticuerpos (figura III), en tanto que las Ig. M. tienen cinco puntos de unión; ello quiere decir que mientras una pareja de hematies puede mostrar aglutinación visible con tres o cuatro moléculas Ig. M (caso del sistema ABO), para obtener el mismo resultado se precisarán más de 100 moléculas de Ig. G. (caso del sistema Rh); pero además de éste pequeño tamaño molecular de las asociaciones de Ig. G, decíamos que los receptores antigénicos del Rh se sitúan en la profundidad de la superficie eritrocitaria; todo ello se traduce por la incapacidad, a veces, de las Ig. G de alcanzar distancias lejanas entre dos receptores correspondientes a dos hematies diferentes y cuya significación práctica es que para determinar el sistema Rh se necesitará mayor cantidad de hematies problema y anti-Rh que para el sistema ABO.

Los antisueros empleados, procedentes de varios Laboratorios comerciales de alta solvencia y garantía fueron siempre controlados por nosotros; los antisueros hemoclasificadores eran, generalmente, para método albuminoso y empleamos los que siguen:

Anti-D (anti-Rh₀); Anti-C (anti-rh'); Anti-E (anti-rh'');
Anti-c (anti-hr'); Anti-e (anti-hr''); Anti-CDE (anti-Rh₀, rh', rh'') y Anti-C^w (anti-rhw¹).

En ocasiones nos vimos forzados a trabajar con antisueros salinos, valorando en este caso su inestabilidad término, y gran susceptibilidad a deteriorarse durante su almacenaje y, por supuesto, la incubación a 37 ° C durante 45-60 minutos de las muestras a estudiar.

Los procedimientos seguidos fueron en portaobjetos y/o en tubo de hemolisis; en ésta última versión fué necesario el lavado previo de los hematies con solución salina fisiológica al 0,9 % (S. S. F.) y suspensión ulterior de los mismos al 2-5 % en la misma solución.

A - Determinación de los antígenos D, C, E, c y e. -

1) Método en portaobjetos con antisueros albuminoideos:

a. 1. 1 - Sobre un portaobjetos limpio colocamos dos gotas de sangre total y fresca; si el estudio se hace en persona con hematocrito bajo se concentrarán los hematies al 40-50 %.

Si queremos hacer genotipo serán necesarios cinco portaobjetos con sendas muestras de hematies correspondientes a los antígenos referidos.

a. 1. 2 Agregamos una gota del antisuero específico que de seamos determinar, ésto es, anti-D y anti-C, etc.; en el supuesto de hacer genotipo se requieren los cinco antisueros clasificadores.

a. 1. 3 Mezclamos homogéneamente extendiendo la mezcla sobre la mayor parte del portaobjetos o de los portaobjetos, según el caso.

a. 1. 4 Colocamos el portaobjetos o los portaobjetos sobre la superficie de cristal de un visualizador, a temperatura de 45-50 ° C.

a. 1. 5 Balanceamos suavemente el visualizador por un tiempo no superior a los dos minutos.

a. 1. 6 Si aparece aglutinación, interpretamos que la muestra contiene el antígeno correspondiente al antisuero específico empleado; así, si con anti-D hay aglutinación decimos que los hematies son Rh₀ (D) positivo y si no aparece aglutinación que son Rh₀ (D) negativo.

- a. 1.7 A veces, pasados los dos minutos puede surgir una aglutinación y en el caso de utilizar anti-D, interpretamos que los eritrocitos estudiados tienen antígeno D débil (D^u) de alto grado. Más adelante nos ocuparemos del método para D^u .
- a. 1.8 El factor Rouleaux, las aglutininas frías y los anticuerpos pueden motivar falsas reacciones positivas; en estas ocasiones se emplea una gota de albúmina bovina al 30 % en sustitución del antisuero, como control negativo.
- a. 1.9 En este procedimiento de prueba en portaobjetos con antisuero albuminoideo no deben utilizarse hematies en suspensión S. S. F.

2) Método en tubo de hemolisis con antisueros albuminoideos:

- a. 2.1 Empleamos hematies frescos, lavados y diluidos al 2-5 % y en los que hay ausencia completa de fibrina pues ésta puede dar, tras la centrifugación, falsos positivos.
- a. 2.2 Colocamos dos gotas de esos hematies en un tubo o cinco tubos de hemolisis, si se requiere el genotipo.
- a. 2.3 Añadimos dos gotas de antisuero correspondiente a cada tubo.
- a. 2.4 Agitamos bien y dejamos en reposo durante 3-5 minutos.
- a. 2.5 Centrifugamos durante un minuto a 1.000 r.p.m. ó 30 segundos a 3.400 r.p.m.
- a. 2.6 Agitamos suavemente y examinamos macroscópicamente la o las aglutinaciones, dando la interpretación que comentábamos en el epígrafe a.1.6.

3) Método en tubo con antisuero salino:

Este suero tienen los inconvenientes citados más arriba y sólo puede usarse para el procedimiento en tubo. No obstante este anticuerpo aglutina los hematies Rh positivo tanto en medio salino como albuminoideo.

El método a seguir es el mismo que señalamos en el procedimiento en tubo con anticuerpo albuminoideo, pero el paso 3º es de agitación de la mezcla e incubación a 37º C. durante 45-60 minutos; el paso siguiente es de centrifugación durante dos minutos a 1.000-2.000 r.p.m.; el resto es igual a lo comentado.

B) Determinación de los antígenos Du, C^u y E^u.

Como en su momento describimos estos antígenos son formas o variantes débiles de los antígenos D, C y E. Su investigación, que ha constituido parte interesada de la tesis que desarrollamos, y cuyos resultados se exponen más adelante, se debe realizar en aquellos hematies que no contengan los antígenos D, C y E, toda vez que éstos enmascaran la presencia de sus respectivas formas débiles; es decir, el D^u se buscará en cromosomas del tipo CdE, Cde, cdE y cde, el C^u en los cromosomas del modelo cDE, cdE, cDE y cde y la variante E^u en los correspondientes a CDe, Cde, cDe y cde. Esto empero, no quiere decir que no existan expresiones del tipo D/D^u ó D^u/d, C/C^u ó C^u/c y E/E^u ó E^u/e.

De otros aspectos de estas variantes nos hemos ocupado en el apartado referido a antígenos y anticuerpos del sistema Rh; en "nuestra casuística" volveremos a hacer algunos comentarios.

1) Investigación del antígeno D^u:

b.1.1 Los hematies a estudiar se lavan en S.S.F. al 0,9 %, por las razones ya aludidas.

b.1.2 Estos hematies se diluyen al 2-5 % en S.S.F. al 0,9 %.

- b. 1. 3 En un tubo de hemolisis se depositan dos gotas de los hematies y se añade una gota de suero anti-D y otra gota de albúmina bovina al 30 %.
- b. 1. 4 Agitamos para asegurar la homogeneización.
- b. 1. 5 Se incuban a 37 ° C. durante 45-60 minutos.
- b. 1. 6 Centrifugamos y hacemos primera lectura macroscópica; si hay aglutinación pensamos que se trata de un D^u de alto grado; si no hay aglutinación pasamos a
- b. 1. 7 Lavamos tres veces en S. S. F al 0,9 y decantamos el sobrenadante.
- b. 1. 8 Al botón de hematies que queda en el fondo del tubo le agregamos una gota de suero antiglobulina de Coombs.
- b. 1. 9 Agitamos suavemente y dejamos reposar la mezcla por espacio de 3 minutos.
- b. 1. 10 Centrifugamos a 1.000 r.p.m. durante un minuto ó a 3.400 r.p.m. durante treinta segundos.
- b. 1. 11 Agitamos suavemente el tubo y si aparece aglutinación macroscópica, clasificamos los hematies de D^u positivo; si ésta no aparece depositamos el contenido del tubo en un portaobjetos a 37 ° C y esperamos dos minutos o bien hacemos lectura microscópica; si aún no hay aglutinación etiquetamos las muestras como d, ésto es, Rh₀ (D) negativa.

Ya señalamos que el antígeno D^u debe también sospecharse en las pruebas en portaobjetos que pasados los dos minutos muestran clara aglutinación con anti-D.

2) Investigación de los antígenos C^u y E^u:

El procedimiento que seguimos es el mismo que apuntábamos para el D^u, pero sustituyendo el anticuerpo anti-D por los antisueros anti-C y anti-E, según el caso.

C) - Determinación del antígeno C^W.

Ya manifestábamos que su estudio debe hacerse en hematies C/C ó C/c. Puede investigarse en portaobjetos o en tubo de hemolisis.

c. 1 Método en portaobjetos:

c. 1. 1 Se depositan dos gotas de hematies problema, concentrados al 40-50 %, sobre un portaobjetos.

c. 1. 2 Se añade una gota de suero anti-C^W.

c. 1. 3 Se mezcla y se extiende sobre la superficie del portaobjetos, el cual se coloca en un visualizador al 45-50 ° C.

c. 1. 4 Se espera un máximo de dos minutos; si aparece aglutinación estamos ante unos hematies C^W positivo.

c. 2 Método en tubo de hemolisis:

c. 2. 1 En un tubo de hemolisis se ponen dos gotas de hematies lavados y diluidos al 2-5 % en S.S.F. al 0,9 %.

c. 2. 2 Añadimos dos gotas de suero anti-C^W y mezclamos.

c. 2. 3 Incubamos a 37 ° C. durante 45-60 minutos.

c. 2. 4 Centrifugamos dos minutos a 1.000 r.p.m. ó 30 segundos a 3.400 r.p.m.

c. 2. 5 Se hace lectura macroscópica.

En la figura XVII, tratamos de esquematizar las diferentes etapas que seguimos para clasificar los hematies dentro del sistema Rh - Hr en relación a los antígenos principales (C, D, E, c, d y e). Quizá la primera impresión que se obtenga de esta figura haga suponer que es un proceder largo y costoso en tiempo y economía, pero a poco que se repare, pronto se verá que los montajes van encadenados unos a otros, de modo que bastará un par de tubos a los que se irá adicionando el material necesario, según la fase de investigación; amén

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DE LOS ANTIGENOS

PRINCIPALES DEL SISTEMA R_H-H_F

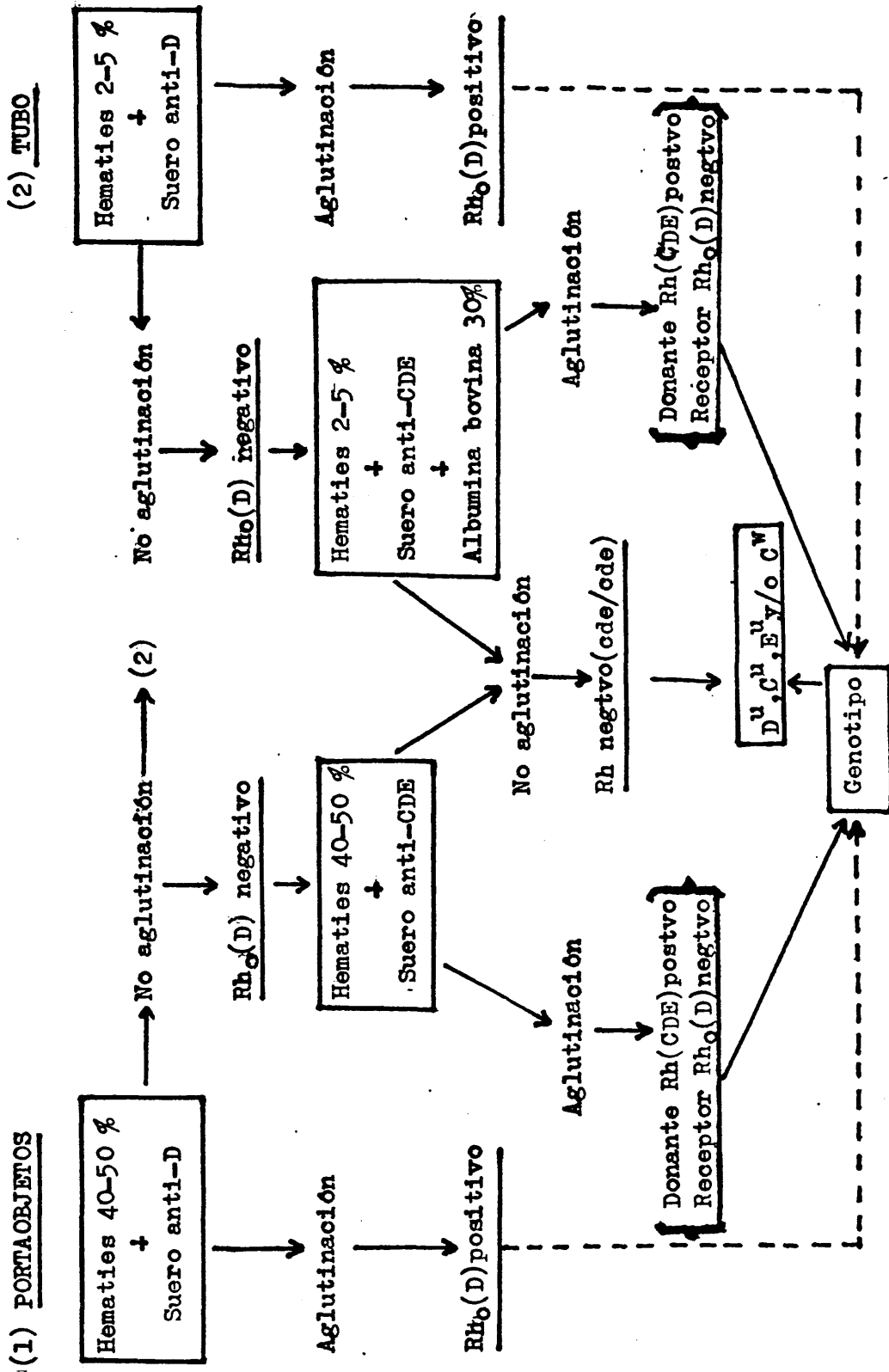


Figura XVII (Explicación en el texto)

de esta cuestión creemos que es un proceder que no admite errores posibles de etiquetaje. En la referida figura XVII se plasma, siguiendo siempre los métodos precitados, el procedimiento que hemos observado. Prueba portaobjetos: dado que, por las razones ya expuestas, el antígeno Rh₀ (D) es el fundamental y más frecuente, será el primero que debe regir nuestra mecánica, sirviéndonos para ello del específico suero anti-D; en el supuesto de que la muestra analizada fuera Rh₀ (D) positiva la conducta a seguir será, si es necesario, investigar el genotipo, variantes débiles y C^W; si por el contrario, los hematies se comportan como Rh₀ (D) negativo, el camino a recorrer es doble y así de un lado confrontamos la muestra con suero anti-CDE y de otro hacemos nueva determinación del antígeno Rh₀ (D) en tubo de hemolisis. Si frente a suero anti-CDE aparecen aglutinaciones interpretamos que los eritrocitos en estudio son Rh₀ (D) negativos pero que contienen antígeno C y/o E (donantes Rh positivo y receptor Rh₀ (D) negativo), siendo imprescindible la determinación de su genotipo y conocer si su cromosoma es portador o no de las formas débiles (D^u, C^u, E^u) y/o C^W; si frente a suero anti-CDE no hay aglutinación, clasificamos a la muestra de Rh negativo homocigote (cde/cde) y buscamos posibles formas débiles y C^W, aún sabiendo que en éste genotipo las mismas son muy raras. Para la prueba en tubo de hemolisis, el esquema seguido es prácticamente el mismo, pero con la circunstancia de que agregamos, a la muestra problema, albúmina bovina al 30 % junto al suero anti-CDE, con la triple finalidad de desenmascarar posibles receptores antigénicos ocultos, reforzar la acción del suero anti-CDE y como paso previo de la búsqueda de variantes débiles.

Nuestra casuística. -

Haremos dos grandes apartados:

A - Frecuencias de los seis antígenos básicos: D, d, C, c, E y e.

B - Frecuencias de algunas variantes antigénicas D^u y D^w , C^u y C^w y E^u .

A - Frecuencias de los antígenos D, d, C, c, E y e:

Se estudiaron estos antígenos en un total 8.240 muestras de sangre, pertenecientes a enfermos del Hospital Clínico de San Carlos y a donantes de sangre que acudían a nuestro Servicio desconociendo su grupo sanguíneo; todos ellos con las características apuntadas en el apartado anterior.

Nos valimos de los cinco antisueros: anti-D, anti-C, anti-E, anti-c y anti-e; con los referidos antisueros pueden manifestarse las diferentes reacciones que en el cuadro XXXVIII se contemplan y, asimismo, en el citado cuadro pueden apreciarse para cada combinación el número de genotipos posibles, el genotipo más frecuente, el fenotipo correspondiente y la referencia al número de muestras halladas para cada modelo cromosómico.

El cuadro XXXIX, complemento del anterior, informa el desglose de las frecuencias observadas en cada genotipo y su rápido análisis nos permite exponer; el número de sangres Rh_0 (D) negativas halladas se cifró en 1.377, ésto es, un 16,7111 %; el orden de frecuencias de los ocho fenotipos posibles es paralelo al establecido por RACE, en la población inglesa, e incluso con datos parciales muy próximos en algunos fenotipos. Un estudio comparativo de nuestros resultados con los obtenidos por RACE, en el muestreo referido, y por WIENER en blancos de Nueva York, se plasma en el cuadro XL.

.../...

Antisueros		Genotipos posibles		Genotipos mas frecuentes		Fenotipos	Número de casos
-C	-D	-E	-c	-e			
+	+	+	+	+	CDe/cde (R ₁ r)	CDe (R ₁)	2878
+	+	-	-	+	CDe/CDe (R ₁ R ₁)	CDe (R ₁)	1529
-	+	+	+	+	cDE/cde (R ₂ r)	cDE (R ₂)	985
-	+	+	+	-	cDE/CDE (R ₂ R ₂)	cDE (R ₂)	181
+	+	+	+	+	CDe/cDE (R ₁ R ₂)	CDE (R _Z)	1109
+	+	-	-	-	CDE/CDE (R _Z R _Z)	CDE (R _Z)	0
+	+	+	-	+	CDE/cde (R _Z r')	CDE (R _Z)	2
+	+	+	+	-	CDE/CDE (R _Z R _Z)	CDE (R _Z)	6
-	+	-	+	+	cDe/cde (R ₀ r)	cDe (R ₀)	173
<hr/>							
+	-	+	+	+	Cde/cde (r'r)	Cde (r')	69
+	-	-	-	+	Cde/Cde (r'r')	Cde (r')	1
+	-	+	+	+	Cde/cdE (r'r'')	CdE (r _y)	0
+	-	+	+	-	CdE/cdE (r _y r'')	CdE (r _y)	0
+	-	+	-	+	CdE/cde (r _y r')	CdE (r _y)	0
+	-	+	-	-	CdE/CdE (r _y r _y)	CdE (r _y)	0
-	-	+	+	+	cdE/cde (r''r)	cdE (r'')	73
-	-	+	+	-	cdE/cdE (r''r'')	cdE (r'')	2
-	-	-	+	+	cde/cde (r r)	cde (r)	1232
Total		36		Total		8	8240

Rh₀(D) positivo

Rh₀(D) negativo

Cuadro XXXVIII

FRECUENCIAS OBSERVADAS DE GENOTIPOS

Rh ₀ (D) positivo:			
Fenotipos	Genotipos hallados	Número de muestras	Frecuencias totales
R ₁ (CDe)	R ₁ r (CDe/cde)	2.878	34.9271 %
R ₂ (cDE)	R ₁ R ₁ (CDe/cDe)	1.529	18.5582 %
	R ₂ r (cDE/cde)	985	11.9538 %
R _Z (CDE)	R ₂ R ₂ (cDE/cDE)	181	2.1966 %
	R ₁ R ₂ (CDe/cDE)	1.109	13.4587 %
	R _Z R ₂ (CDE/cDE)	6	0.0728 %
	R _Z r''(CDE/cde)	2	0.0242 %
R ₀ (cde)	R ₀ r (cde/cde)	173	2.0974 %
Total		6.863	83.2888 %
Rh ₀ (D) negativo:			
r''(Cde)	r'r (Cde/cde)	69	0.8373 %
r _y (CdE)	r'r''(Cde/cde)	1	0.0121 %
	r'r''''(Cde/cdE)	0	0.0000 %
r''(cdE)	r''r (cdE/cde)	73	0.8860 %
	r''r''(cdE/cdE)	2	0.0242 %
r (cde)	r r (cde/cde)	1.232	14.9514 %
Total		1.377	16.7111 %

FENOTIPOS	WIENER	RACE	NOSOTROS
R ₁ (CDē)	54,00 %	53,3972 %	53,4853 %
r (cde)	14,40 %	15,1020 %	14,9514 %
R ₂ (cDE)	14,60 %	14,0769 %	14,1504 %
R _z (CDE)	14,00 %	13,6279 %	13,5557 %
R _o (cDe)	2,10 %	2,0609 %	2,0995 %
r'' (cdE)	0,38 %	0,9376 %	0,9102 %
r' (Cde)	0,46 %	0,7741 %	0,8494 %
r _y (CdE)	0,01 %	0,0243 %	0,0000 %

Cuadro XL

Todos los datos mencionados nos fueron proporcionados por las siguientes reacciones positivas halladas:

anti-D ...	6.863	muestras	83,2888	%
anti-C	5.594	muestras	67,8388	%
anti-E ...	2.358	muestras	28,6165	%
anti-c ...	6.708	muestras	81,4077	%
anti- e ...	8.051	muestras	97,7063	%

Cuadro XLI

El número de muestras que no aglutinaron con anti-D se elevó a 1.377, es decir, que obtuvimos (cuadro XXXIX) un valor del 16,7111 % de Rh_o (D) negativo homocigoto, dd; en virtud de lo reflejado en el cuadro XXXVIII el número de sangre heterocigotas D d encontradas en nuestro estudio es de 4.038, ésto es, el 49,0048 %.

Las frecuencias observadas de los genotipos fueron:

GENOTIPOS	FRECUENCIAS OBSERVADAS	
	Valor absoluto	Valor decimal
D D	2.825	0,342839
D d	4.038	0,490048
d d	1.377	0,167111
Total ...	8,240	0,999998
C C	1.532	0,185922
C c	4.062	0,492961
c c	2.646	0,321116
Total ..	8.240	0,999999
E E	189	0,022936
E e	2.169	0,263228
e e	5.882	0,713835
Total ...	8.240	0,999999

Cuadro XLII

Los cálculos de las frecuencias génicas los realizamos - aplicando las fórmulas de WIENER y VAISBERG:

$$p = \text{gen D} = \frac{D D}{N} + \frac{1/2 Dd}{N} = \frac{2.825}{8.240} + \frac{1/2 \times 4.038}{8.240} = 0,587864$$

$$q = \text{gen d} = \frac{d d}{N} + \frac{1/2 Dd}{N} = \frac{1.377}{8.240} + \frac{1/2 \times 4.038}{8.240} = 0,412135$$

$$p + q = 0,587864 + 0,412135 = 0,999999.$$

$$r = \text{gen C} = \frac{C C}{N} + \frac{1/2 C c}{N} = \frac{1.532}{8.240} + \frac{1/2 \times 4.062}{8.240} = 0,432403$$

$$s = \text{gen c} = \frac{c c}{N} + \frac{1/2 C c}{N} = \frac{2.646}{8.240} + \frac{1/2 \times 4.062}{8.240} = 0,567596$$

$$r + s = 0,432403 + 0,567596 = 0,999999.$$

$$t = \text{gen E} = \frac{E E}{N} + \frac{1/2 E e}{N} = \frac{189}{8.240} + \frac{1/2 \times 2.169}{8.240} = 0,154550$$

$$u = \text{gen e} = \frac{e e}{N} + \frac{1/2 E e}{N} = \frac{5.882}{8.240} + \frac{1/2 \times 2.169}{8.240} = 0,845449$$

$$t + u = 0,154550 + 0,845449 = 0,999999$$

Por lo tanto las frecuencias génicas fueron:

frecuencia del gen D	0,587864
frecuencia del gen d	0,412135
frecuencia del gen C	0,432403
frecuencia del gen c	0,567596
frecuencia del gen E	0,154550
frecuencia del gen e	0,845449

Cuadro XLIII

FRECUENCIAS CALCULADAS

<u>Valor decimal:</u>	
Frecuencia del genotipo DD : $(0,587864)^2$	=0,345584
Frecuencia del genotipo Dd : $0,587864 \times 0,412135 \times 2$	=0,484558
Frecuencia del genotipo dd : $(0,412135)^2$	=0,169855
Frecuencia del genotipo CC : $(0,432403)^2$	=0,186973
Frecuencia del genotipo Co : $0,432403 \times 0,567596 \times 2$	=0,490860
Frecuencia del genotipo oo : $(0,567596)^2$	=0,322165
Frecuencia del genotipo EE : $(0,154550)^2$	=0,023886
Frecuencia del genotipo Ee : $0,154550 \times 0,845449 \times 2$	=0,261328
Frecuencia del genotipo ee : $(0,845449)^2$	=0,714784
<u>Valor absoluto:</u>	
Frecuencia del genotipo DD : $8.240 \times 0,345584$	=2.847,612
Frecuencia del genotipo Dd : $8.240 \times 0,484558$	=3.992,757
Frecuencia del genotipo dd : $8.240 \times 0,169855$	=1.399,605
Frecuencia del genotipo CC : $8.240 \times 0,186973$	=1.540,657
Frecuencia del genotipo Co : $8.240 \times 0,490860$	=4.044,686
Frecuencia del genotipo oo : $8.240 \times 0,322165$	=2.654,639
Frecuencia del genotipo EE : $8.240 \times 0,023886$	= 196,820
Frecuencia del genotipo Ee : $8.240 \times 0,261328$	=2.153,342
Frecuencia del genotipo ee : $8.240 \times 0,714784$	=5.889,820

Cuadro XLIV

Seguidamente, a partir de las frecuencias génicas observadas (cuadro XLIII), dedujimos las frecuencias calculadas de los genotipos en estudio, sirviéndonos para ello de las fórmulas que exponemos en el cuadro XLIV.

A continuación, con la finalidad de determinar si hay equilibrio genético en la población estudiada, comparamos los valores absolutos observados de los genotipos (cuadro XLII) con los calculados (cuadro XLIV):

Para los genes D y d:

$$\chi^2 = \frac{(2825 - 2847,612)^2}{2847,612} + \frac{(4038 - 3992,757)^2}{3992,757} + \frac{(1377 - 1399,605)^2}{1399,605} =$$

$$= 0,1795 + 0,5126 + 0,3650 = 1,057$$

Para los genes C y c:

$$\chi^2 = \frac{(1532 - 1540,657)^2}{1540,657} + \frac{(4062 - 4044,686)^2}{4044,686} + \frac{(2646 - 2654,639)^2}{2654,639} =$$

$$= 0,2023 + 0,0741 + 0,0007 = 0,2771$$

Para los genes E y e:

$$\chi^2 = \frac{(189 - 196,820)^2}{196,820} + \frac{(2169 - 2153,342)^2}{2153,342} + \frac{(5882 - 5889,820)^2}{5889,820} =$$

$$= 0,3107 + 0,1138 + 0,0103 = 0,4348$$

Para estos valores de χ^2 , con un grado de libertad, encontramos las siguientes probabilidades externas o derechas (p):

- en los genes D y d= p comprendida entre 0,30 y 0,40
- en los genes C y c= p comprendida entre 0,60 y 0,70
- en los genes E y e= p comprendida entre 0,50 y 0,60,

lo cual quiere decir que no hay diferencias significativas y por ello la muestra analizada está en equilibrio genético, pudiéndose aceptar estos valores génicos como representantes de la población española en general; en efecto, para un valor χ^2 igual a 3,841 corresponde un $p = 0,05$ que es el límite de las diferencias significativas y nuestras probabilidades son superiores a este valor 0,05.

En base a este equilibrio genético, establecimos, para los seis genes principales del sistema Rh-Hr los distintos cruzamientos posibles a expensas de las frecuencias teóricas de dichos cruzamientos, con la obtención de las frecuencias calculadas que en el cuadro XLV se presentan.

La distribución de frecuencias esperadas o calculadas de los genotipos posibles de D y d, C y c, E y e, en padres e hijos, siempre en función de nuestra casuística, quedan reflejados en los cuadros XLVI, XLVII y XLVIII, respectivamente.

Para determinar las frecuencias de cada uno de los ocho cromosomas o complejos génicos que integran el sistema Rh-Hr, seguiremos el procedimiento que el profesor FISHER señaló en "Note on the calculation of the frequencies of rhesus allelomorphs".

Ahora bien, FISHER sólo empleó, en 1.947, los cuatro sueros anti-C, anti-D, anti-E y anti-c, y como nosotros utilizamos además de los referidos antisueros el anti-e, hemos verificado las correcciones oportunas; de este modo obtuvimos los valores que informamos:

(Los valores que manejamos aparecen en el cuadro XXXIX en la columna de frecuencias totales):

$$\begin{aligned} \text{-cromosoma } r &= cde = \sqrt{r r} = \sqrt{0,149514} = \\ &= 0,3866704. \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{-cromosoma } r' &= Cde = \sqrt{r r + r r' + r' r'} - \sqrt{r r} = \\ &= 0,3974896 - 0,3866704 = \\ &= 0,0108192. \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{-cromosoma } r'' &= cdE = \sqrt{r r + r r' + r' r'' + r'' r'} - \sqrt{r r} = \\ &= \sqrt{0,149514 + 0,008860 + 0,000242} - \sqrt{0,149514} \\ &= 0,3982662 - 0,3866704 = \\ &= 0,0115958. \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{-cromosoma } R_0 &= cDe = \sqrt{r r + R_0 r} - \sqrt{r r} = \\ &= \sqrt{0,149514 + 0,0020974} - \sqrt{0,149514} = \\ &= 0,4129019 - 0,3866704 = \\ &= 0,0262315. \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{-cromosoma } R_1 &= CDe = \sqrt{R_1 R_1 + r' r'} - \text{frecuencia del cromosoma } Cde = \\ &= \sqrt{0,185582 + 0,000121} - 0,0108192 = \\ &= 0,4201135. \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{-cromosoma } R_z &= CDE = \sqrt{R_1 R_1 + r' r' + R_z R_z + R_z r'} - \text{frecuencia de la suma de los cromosomas } CDe \text{ y } Cde = \\ &= \sqrt{0,185582 + 0,000121 + 0,000242} - \\ &\quad - (0,4201135 + 0,0108192) = 0,4312134 - \\ &\quad - 0,4309327 = \\ &= 0,0002807. \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{-cromosoma } R_2 &= cDE = 1 - \text{suma de las frecuencias de los otros cromosomas} = \\ &= 1 - 0,8557111 = \\ &= 0,1442889. \end{aligned}$$

Es decir, las frecuencias observadas, en valores decimales, de

los cromosomas fué la que en el cuadro XLIX se contempla:

FRECUENCIAS CROMOSOMICAS CALCULADAS

R_1 (CDe)	0,420113
r (cde)	0,386670
R_2 (cDE)	0,144289
R_o (cDe)	0,026231
r'' (cdE)	0,011596
r' (Cde)	0,010820
R_z (CDE)	0,000280
r_y (CdE)	0,000000

Cuadro XLIX

Conocidas así las frecuencias cromosómicas en nuestro muestreo, podemos deducir el número de sangres esperadas o calculadas para cada uno de los 36 genotipos posibles, siendo ello aplicable, en virtud del equilibrio génico ya apuntado, a la población española en general; estas frecuencias se reflejan en el cuadro L y para su cálculo nos servimos del proceder que a continuación exponemos:

$$\begin{array}{lll}
 R_1 R_1 & = & (R_1)^2 \\
 R_1 r & = & 2R_1 r \\
 R_1 R_2 & = & 2R_1 R_2 \\
 R_1 R_o & = & 2R_1 R_o \\
 R_1 r'' & = & 2R_1 r'' \\
 R_1 r' & = & 2R_1 r' \\
 R_1 R_z & = & 2R_1 R_z \\
 R_1 r_y & = & 2R_1 r_y \\
 \\
 r r & = & r^2 \\
 r R_2 & = & 2rR_2 \\
 r R_o & = & 2rR_o \\
 r r'' & = & 2rr'' \\
 r r' & = & 2rr' \\
 r R_z & = & 2rR_z \\
 r r_y & = & 2rr_y \\
 \\
 R_2 R_2 & = & (R_2)^2 \\
 R_2 R_o & = & 2R_2 R_o \\
 R_2 r'' & = & 2R_2 r'' \\
 R_2 r' & = & 2R_2 r' \\
 R_2 R_z & = & 2R_2 R_z \\
 R_2 r_y & = & 2R_2 r_y
 \end{array}$$

$$\begin{array}{lll}
 R_o R_o & = R_o^2 & r'' r'' = (r'')^2 & r' r' = (r')^2 \\
 R_o r'' & = 2R_o r'' & r'' r' = 2r'' r' & r' R_z = 2r' R_z \\
 R_o r' & = 2R_o r' & r'' R_z = 2r'' R_z & r' r_y = 2r' r_y \\
 R_o R_z & = 2R_o R_z & r'' r_y = 2r'' r_y & \\
 R_o r_y & = 2R_o r_y & & \\
 \\
 R_z R_z & = (R_z)^2 & r_y r_y = (r_y)^2 & \\
 R_z r_y & = 2R_z r_y & &
 \end{array}$$

B - Frecuencias de las variantes D^u, D^w, C^u, C^w y E^u.

Entre las variantes antigénicas descritas dentro del sistema Rh, hemos elegido principalmente para su estudio aquellos antígenos que nos fueron más útiles para descartar a falsos Rh-negativos, admitiendo sólo como negativos verdaderos a los que presentan el genotipo cde/cde.

Un par de genes alelomorfos son aquellos que transmiten un mismo carácter genético, pudiéndose reemplazar el uno por el otro en un mismo "locus" cromosómico; es decir, la presencia de uno excluye la del otro gen en el mismo "locus"; la ausencia total de ambos es muy rara, pero no imposible, hablándose entonces de deleciones o supresiones por pérdida real o aparente del segmento cromosómico portador de determinado locus, cuestión que ya hemos comentado en otro momento.

Todas las formas antigénicas Rh reaccionan con antisueros específicos; las llamadas variantes débiles aglutinan, asimismo, con anticuerpos específicos, pero para ponerlos en evidencia es recomendable emplear anticuerpos específicos de diferente origen y según las pautas consignadas en el apartado de "material y métodos" de este sistema y las indicaciones de la figura XVII. Las formas débiles o alelomorfos D^u, D^w, C^u y E^u, que seguidamente estudiaremos no crean, si exceptuamos el alelo C^w, anticuerpos anti-D^u, anti-D^w, anti-C^u ni anti-E^u

FRECUENCIAS CALCULADAS DE GENOTIPOS

Fenotipos		Genotipos			
		Wiener	Fisher	Frecuencias decimales	
Ro(D) positivo	R ₁ (CDe)	R ₁ R ₁	CDe/CDe	0,176495	0,533082
		R ₁ r ₁	CDe/ode	0,324890	
		R ₁ R ₀	CDe/cDe	0,022039	
		R ₁ r ₀	CDe/Cde	0,009091	
		R ₀ r ₀	oDe/Cde	0,000567	
	R ₂ (cDE)	R ₂ r	oDE/ode	0,111584	0,143926
		R ₂ R ₀	oDE/cDe	0,007569	
		R ₂ R ₂	oDE/oDE	0,020819	
		R ₂ r ₀	oDE/odE	0,003346	
		R ₀ r ₀	oDe/odE	0,000608	
	R _z (CDE)	R ₁ R ₂	CDe/oDE	0,121235	0,134657
		R ₁ r ₀	CDe/odE	0,009743	
		R ₁ R _z	CDe/CDE	0,000235	
		R ₁ r _z	CDe/CdE	0,000000	
		R ₂ r _z	oDE/Cde	0,003122	
		R ₂ R _z	oDE/CDE	0,000080	
R ₂ r _z		oDE/CdE	0,000000		
R _z r _z		CDE/ode	0,000216		
R _z R ₀		CDE/ode	0,000014		
R _z r ₀		CDE/Cde	0,000006		
R _z r ₀		CDE/odE	0,000006		
R _z R _z		CDE/CDE	0,000000		
R _z r _y		CDE/CdE	0,000000		
R ₀ r _y		oDe/CdE	0,000000		
R ₀ (cDe)	R ₀ r	oDe/ode	0,020285	0,020973	
	R ₀ R ₀	oDe/cDe	0,000688		
Total				0,832638	
Ro(D) negativo	r ⁻ (Cde)	r r ⁻	ode/Cde	0,008367	0,008484
		r ⁻ r ⁻	Cde/Cde	0,000117	
	r _y (CdE)	r ⁻ r _y	Cde/odE	0,000250	0,000250
		r ⁻ r _y	ode/CdE	0,000000	
		r ⁻ r _y	Cde/CdE	0,000000	
		r ⁻ r _y	ode/CdE	0,000000	
		r _y r _y	CdE/CdE	0,000000	
	r ⁻ (cdE)	r ⁻ r	odE/ode	0,008967	0,009101
		r ⁻ r ⁻	odE/odE	0,000134	
	r (cde)	r r	ode/ode	0,149514	0,149514
Total				0,167349	

Cuadro I

Cruzamientos posibles	Frecuencias teóricas de genotipos	Frecuencias calculadas
D D x D D	D ⁴ == (0, 587864) ⁴	0, 1194283
D D x D d	4D ³ d == 4(0, 587864) ³ (0, 412135) ²	0, 3349112
D D x d d	2D ² d ² == 2(0, 587864) ² (0, 412135) ²	0, 1173984
D d x D d	4D ² d ² == 4(0, 587864) ² (0, 412135) ²	0, 2347968
D d x d d	4Dd ³ == 4(0, 587864)(0, 412135) ³	0, 1646094
d d x d d	d ⁴ == (0, 412135) ⁴	0, 0288507
C C x C C	C ⁴ == (0, 432403) ⁴	0, 0349586
C C x C c	4C ³ c == 4(0, 432403) ³ (0, 567596) ²	0, 1835544
C C x c c	2C ² c ² == 2(0, 432403) ² (0, 567596) ²	0, 1204719
C c x C c	4C ² c ² == 4(0, 432403) ² (0, 567596) ²	0, 2409438
C c x c c	4Cc ³ == 4(0, 432403)(0, 567596) ³	0, 3162760
c c x c c	c ⁴ == (0, 567596) ⁴	0, 1037904
E E x E E	E ⁴ == (0, 154550) ⁴	0, 0005705
E E x E e	4E ³ e == 4(0, 154550) ³ (0, 845449) ²	0, 0124838
E E x e e	2E ² e ² == 2(0, 154550) ² (0, 845449) ²	0, 0341462
E e x E e	4E ² e ² == 4(0, 154550) ² (0, 845449) ²	0, 0682924
E e x e e	4Ee ³ == 4(0, 154550)(0, 845449) ³	0, 3735865
e e x e e	e ⁴ == (0, 845449) ⁴	0, 5109161

Frecuencias calculadas para los seis cruzamientos posibles de los genotipos del sistema Rh-Hr.

Cuadro XIV

GENOTIPOS

PAREJAS	FRECUENCIAS CALCULADAS		HIJOS					
	FRECUENCIAS TEORICAS		D	D d	d d	D D	D d	d d
Cruzamientos			D ⁴					
D x D D	0,1194283					0,1194283		
D x D d	0,3349112		2D ³ d			0,1674556	0,1674556	
D x d d	0,1173984			2D ² d ²			0,1173984	
D d x D d	0,2347986		D ² d ²	2D ² d ²	D ² d ²	0,0586992	0,1173984	0,0586992
D d x d d	0,1646094			2D d ³	2D d ³		0,0823047	0,0823047
d d x d d	0,0288507				d ⁴			0,0288507
Total	0,9999948					0,3455561	0,4845571	0,1698546

Relación de frecuencias teóricas y calculadas para la descendencia, de los genes D y d, según resultados de nuestro trabajo

Cuadro XLVI

G E N O T I P O S

PAREJAS	FRECUENCIAS CALCULADAS	H I J O S		FRECUENCIAS CALCULADAS	
	C C	C c	c c	C C	C c
C C x C C	0,0349586	---	---	0,0349586	---
C C x C c	0,1835544	$2c^3c$	---	0,0917772	---
C C x c c	0,1204719	$2c^2c^2$	---	0,1204719	---
C c x C c	0,2409438	c^2c^2	c^2c^2	0,0602359	0,1204719
C c x c c	0,3162760	$2c^3c^3$	$2c^3c^3$	---	0,1581380
c c x c c	0,1037904	---	c^4	---	0,1037904
Total	0,9999951			0,1869717	0,4908590
				0,3221643	

Relación de frecuencias teóricas y calculadas
para la descendencia, de los genes C y c, según
resultados de nuestro trabajo.

Cuadro XLVII

PAREJAS		FRECUENCIAS CALCULADAS		HIJOS			
Cruzamientos				FRECUENCIAS TEORICAS		FRECUENCIAS CALCULADAS	
				E E	E e	e e	
E E x E E	0,0005705	E ⁴	—	—	0,0005705	—	—
E E x E e	0,0124838	2E ³	2E ³ e	—	0,0052419	0,0062419	—
E E x e e	0,0341462	—	2E ² e	—	—	0,0341462	—
E e x E e	0,0682924	E ² e ²	2E ² e ²	E ² e ²	0,0170731	0,0341462	0,0170731
E e x e e	0,3735865	—	2C c ³	2C c ³	—	0,1867932	0,1867932
e e x e e	0,1037904	—	—	e ⁴	—	—	0,1037904
Total	0,9999955				0,0238855	0,2613275	0,7147824

Relación de frecuencias teoricas y calculadas para la descendencia, de los genes E y e, según resultados de nuestro trabajo.

Cuadro XLVIII

y aglutinan con anti-D, anti-C y anti-E, respectivamente; el antígeno C^w , en cambio, como hemos visto, tiene un anticuerpo específico.

Las investigaciones se realizaron con un contingente de personas, unos hemodonantes y otros enfermos del Hospital no familiares entre sí, con las salvedades que en su lugar anotaremos.

B-1) - Variantes D^u y D^w . -

La investigación de esta variedad débil (D^u) es doblemente importante desde el punto de vista de la Hemoterapia, ya que al clasificar a un donante D^u positivo como Rh negativo, podemos provocar una inmunización a un receptor Rh negativo verdadero (dd) e incluso un accidente transfusional, si este receptor está inmunizado. Por otra parte, la variante D^u puede producir una sensibilización fetomaterna y cuadros de eritroblastosis fetal; nosotros hemos visto un caso este año; la no búsqueda de este factor en los fetos Rh negativos, nos impediría realizar una profilaxis correcta en una mujer Rh negativa y cuyo hijo fuese D^u positivo.

Iniciamos este análisis el día 18-1-1968 con aplicación exclusiva a los donantes de sangre Rh₀ (D) negativo; poco después incorporamos, por el gran interés precitado, las sangres de mujeres embarazadas y de sus respectivos cónyuges y recién nacidos; por último lo extendimos a enfermos ingresados en el Hospital sin discriminación de ningún tipo, pero siempre con genotipo dd.

El conjunto de Rh₀ (D) negativos investigados alcanza la cifra de 4.035, lo cual, si valoramos según nuestra casuística (cuadro XXXIX), que el 16,7111 % son Rh₀ (D) negativo, quiere decir que fueron en total examinadas algo más de 24.000 muestras de sangre conforme el criterio marcado en la figura XVII (precisamente de esas 24.000 fueron aprovechadas 8.240 para los estudios completos de genotipo que plasmamos en el cuadro XXXIX).

De esas 4.035 sangres Rh₀ (D) negativo, al emplear en ellas sue

ro anti-CDE, resultaron 3.837 negativas con genotipo cde/cde; los restantes 198 casos mostraban el antígeno C, el E o los dos, en dosis doble o sencilla. La distribución de los genotipos la recogemos en el cuadro LI.

Distribución de genotipos en los que se estudió la variante débil D^u

Número de casos	GENOTIPOS	
	FISHER	WIENER
3.837	ccddee	r r
102	Ccddee	r' r
1	CCddee	r' r'
91	ccddEe	r r''
2	ccddEE	r'' r''
2	CcddEe	r' r''
4.035	Total	

Cuadro LI

Los genotipos que contenían la forma débil D^u fueron un total de 61, es decir, que el 1,5117 % de las sangres Rh₀ (D) negativas estudiadas eran verdaderamente D^u positivas y con el reparto por genotipos que en el cuadro LII presentamos:

Distribución de frecuencias de los genotipos D^u positivo (61 = 1,5177 %)

Genotipos	D^u positivo	% de D^u	% en D^u positivo
ccddee	8	0,1990	13,1147
Ccddee	31	0,7713	50,8197
CCddee	1	0,0249	1,6393
ccddEe	20	0,4976	32,7869
ccddEE	0	0,0000	0,0000
CcddEe	1	0,0249	1,6393
Total	61	1,5177	99,9999

Cuadro LII

El sistema comparativo de los dos cuadros precedentes nos lleva a las conclusiones siguientes:

1) De los 103 casos hallados con fenotipo Cde (r'), realmente 32 eran CD^u_e , ésto es, el 31,0679 %.

2) De los 93 encontrados con el fenotipo cdE (r''), verdaderamente 20 eran CD^u_e , es decir, el 21,5053 %.

3) En los 3.837 casos de fenotipo cde (r), 8 eran CD^u_e , o sea, el 0,2084 %.

4) Y de 2 fenotipos CdE (r_y), uno de ellos, el 50 %, era CD^u_e ; este porcentaje, empero, carece de valor estadístico por razones obvias de comprender.

En el grupo de los genotipados como ccddee incluimos un D^u positivo detectado en un sujeto de raza negra, oriundo de EE. UU., casado con una española. Si recordamos los comentarios al referirnos al factor Wiel, es posible que estos eritrocitos sean CD^w_e .

Uno de los D^u , también con genotipo ccddee (CD^u_e) y otro asimilado a los de genotipo ccddEe (CD^u_E), se manifestaban por aglutinación directa en placa a 37° C. pasados los dos minutos; estas pruebas las repetimos en varias ocasiones y diferentes momentos con los mismos resultados siempre, de tal modo que decidimos etiquetar sendas muestras como " D^u de alto grado". Asimismo, un ejemplar de CcddEe con D^u (CD^u_E), lo clasificamos como " D^u de alto grado", ya que en placa no evidenció aglutinación, pero en tubo incubado a 37 ° C y en medio albuminoide mostró una aglutinación clara sin necesidad de la antiglobulina de Coombs.

Por lo redactado podemos colegir que de las 61 muestras con D^u positivo, 3 de ellas (4.9180 %) eran " D^u de alto grado" y las 58 restantes (95,0819 %) eran " D^u de bajo grado", existiendo entre estos diferentes tipos de reactividad en la aglutinación.

De otro lado buscamos la incidencia del antígeno en cuestión según la procedencia de las sangres, pero los valores recogidos carecen de significado estadístico.

Si el sujeto D^u positivo se considera como Rh_0 (D) positivo para dar sangre y Rh_0 (D) negativo para recibirla, ésto tendrá notable importancia también en la incompatibilidad feto-materna; de los 61 D^u positivos, 21 pertenecían a mujeres (34,4262 %), 1 correspondía a un recién nacido (1,6393 %) y 39 (63,9344 %) a varones adultos; en el supuesto de que los últimos estuvieran casados con mujer Rh_0 (D) negativa, estas deberían ser sometidas a profilaxis de la enfermedad hemolítica perinatal por incompatibilidad Rh.

Asimismo, hacemos notar que de los 61 D^u positivo (cuadro LII) la mayor frecuencia se encontró en los fenotipos Cde (52,459 %) siguiéndole el fenotipo cdE (32,7869 %); por ello, siempre que los hematíes de una prueba contengan los antígenos C y/o E, junto a la ausencia del antígeno D, debemos sospechar la posibilidad de que sean verdaderamente D^u positivo.

Como dato simplemente anecdótico consignemos que en relación al sistema ABO, el antígeno D^u se distribuyó así: 32 eran A (30 A_1 y 2 A_2), 18 eran O, 10 pertenecían al B y sólo 1 al grupo AB.

Sabido es que en el D^u , según el modo de transmitirse, CEPPELLINI distinguió las variedades de " D^u hereditario" y " D^u de interacción génica"; pues bien, sendas eventualidades hemos tenido oportunidad de constatar. Ya antes manifestábamos que habíamos tenido un caso de incompatibilidad Rh feto-materna por D^u ; el estudio del mismo (figura XVIII) nos permitió reconocer el genotipo CD^ue/cde en el niño como heredado del padre, el cual era portador en el genotipo CD^ue/cde ; un hijo anterior, habido en el mismo matrimonio tenía genotipo cde/cde .

Antígeno D^u hereditario

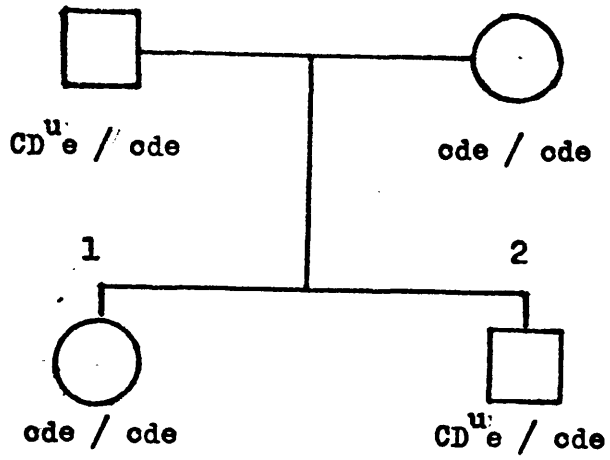


Figura XVIII

(Explicación en el texto)

Antígeno D^u de interacción génica

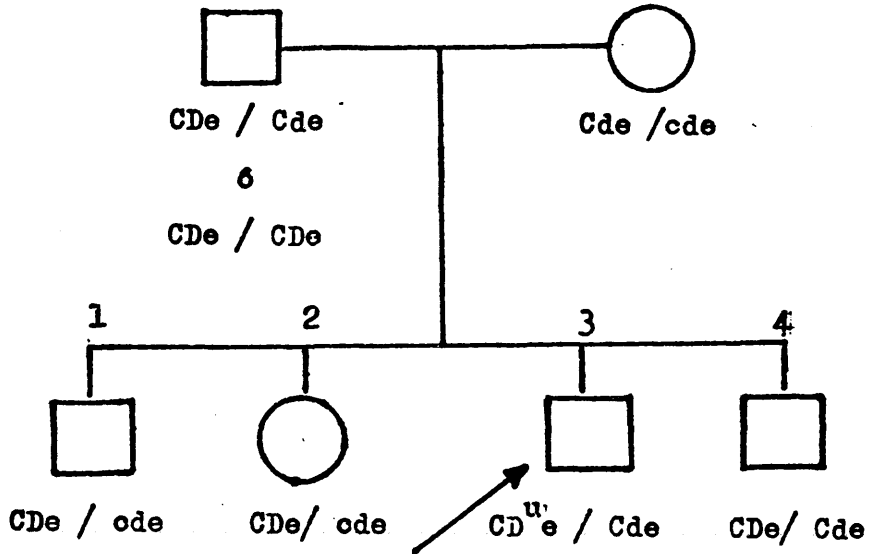


Figura XIX

(Explicación en el texto)

El D^u de "interacción génica" lo ratificamos en un hemodonador, estudiante de medicina; el estudio familiar demostró la no existencia de la forma débil de D en sus progenitores, heredando sus tres hermanos un antígeno D normal; el genotipo del "caso propositus" fué - en principio etiquetado como Cde/Cde, pero la prueba de Coombs in directa reveló que su verdadero genotipo era CD^u_e/Cde ; pensamos - que la posición "trans" (en el cromosoma opuesto al D) del antígeno C estaba suprimiendo o enmascarando la actividad del D normal en el otro cromosoma (figura XIX).

B - 2) - Variantes antigénicas C^u y C^w .

La variante C^u es un antígeno C débil de intensidad, detectable con la prueba de Coombs indirecta y suero anti-C incompleto (Ig. G.).

Viene marcada por el antígeno C y por ello quiere decirse que - en la asociación CC^u no puede aislarse, lo cual explica por qué la - investigación se realizó en personas portadores en su sangre de los fenotipos cDE (R_2), cDe (R_0), cdE (r'') y cde (r).

Por tanto, el trabajo se verificó sobre un total de 2.279 muestras homocigotas respecto a c (cc), dividiendo las mismas en seis - grupos:

Fenotipos	MUestras analizadas	C^u positivo
ccDEe (R_2)	74	1 ?
ccDee (R_0)	34	0
ccDEE (R_2)	15	0
ccdEe (r'')	40	0
ccdEE (r'')	3	0
ccddee (r)	2.113	0
Total	2.279	1 ?

Cuadro LIII

Muestras estudiadas	Antisueros				Genotipos mas frecuentes	Fenotipos	C ^w positivos
	-C	-D	-E	-c -e -C ^w			
413	+	+	-	+	C ^w De/cde (R ₁ ^w r)	C ^w De (R ₁ ^w)	16
160	+	+	-	+	C ^w De/CDe (R ₁ ^w R ₁)		12
77	-	+	+	+	cDE/cde (R ₂ r)	cDE (R ₂)	0
29	-	+	+	-	cDE/cDE (R ₂ R ₂)		0
122	+	+	+	+	C ^w De/cDE (R ₁ ^w R ₂)	C ^w DE (R ₂ ^w)	5
2	+	+	+	-	CDE/cDE (R ₂ ^w R ₂)	CDE (R ₂)	0
79	-	+	-	+	cDe/cde (R ₀ r)	cDe (R ₀)	0
33	+	-	-	+	C ^w de/cde (r' ^w r')	C ^w de (r' ^w)	1
45	-	+	+	+	cdE/cde (r''r)	cdE (r'')	0
191	-	-	-	+	cde/cde (r r)	cde (r)	0
1.151	Total				Total	8	34

Cuadro LIV

Nuestra casuística puede considerarse nula en resultados positivos, toda vez que después de los resultados manifestados en el cuadro LIII no hemos encontrado ningún C débil, pese a tener en la actualidad un posible sospechoso, pero que no hemos podido ratificar por no disponer en el momento oportuno de diferentes sueros anti-C; en el supuesto de que la mencionada sospecha se hiciera realidad, tendríamos un caso positivo de C^u en el fenotipo $C^u cDEe$ (R_2); ésto es, el antígeno C^u se nos presentó con una frecuencia del 0,0438 % en el total de muestras investigadas, lo cual representa una cifra muy inferior a la que dan otros autores (0,2 %); en el fenotipo R_2 cobra un valor del 1,3513%.

Estos resultados no nos desalientan; por el contrario, no hemos desistido en la búsqueda de esta infrecuente variante antigénica.

La variante C^w , como se apuntó en el apartado de material y métodos, se detecta con suero específico anti- C^w . Su localización recayó primordialmente en los fenotipos R_1 (Cde), R_2 (CDE), $r'(Cde)$ y r_y (CdE), ésto es, en aquellos dónde el dúo CC ó Cc es posible y secundariamente hicimos algunas determinaciones en los fenotipos R_2 (cDE), R_0 (cDe), $r'(cde)$ y r (cde), o sea, con la pareja cc, en virtud de que, como después indicaremos, prácticamente sólo en la primera serie de fenotipos es factible su detección y únicamente en teoría puede aislarse en los de la pareja cc. En efecto, C^w , producto del gen C^w , es junto a c alelo de C y de transmisión hereditaria, pudiendo ser portado en las combinaciones siguientes:

$$C^w C, C^w c \text{ y } C^w C^w.$$

Los C^w halladas por nosotros en cada fenotipo, por razones obvias, fueron asimilados a los genotipos que más asiduamente configuran ese fenotipo (cuadros XXXI y L). Así, por caso, en el fenotipo R_1^w se consideraron los dos genotipos más frecuentes, $R_1^w r$ ($C^w De/cde$) y $R_1^w R_1$ ($C^w De/CDe$) y soslayamos los de menor porcentaje, $R_1 R_0$ (CDe/cDe), $R_1 r'(CDe/Cde)$ y $R_0 r'(cDe/Cde)$.

El trabajo se llevó a efecto en 1.151 muestras de sangre, las cuales fueron tratadas con antisueros anti-C, anti-D, anti-E, anti-c, anti-e y anti-C^W, obteniendo los resultados que en el cuadro LIV - se informan.

El cuadro LV es una simplificación del precedente, donde notificamos los porcentajes de C^W positivo encontrados.

FENOTIPOS	Muestras estudiadas	C ^W positivos hallados	Frecuencias total	en cada genotipo
C ^W cDee (R ₁ ^W)	413	16	1,3900 %	3,8740 %
C ^W CDee (R ₁ ^W)	160	12	1,0425 %	7,5000 %
C ^W cDEe (R _Z ^W)	122	5	0,4344 %	4,0983 %
ccDEe (R ₂)	187	0	0,0000 %	0,0000 %
ccDEE (R ₂)				
CcDEE (R _Z)				
ccDee (R ₀)				
C ^W cddee (r' ^W)	33	1	0,0868 %	3,0303 %
ccddEe (r''')	236	0	0,0000 %	0,0000 %
ccddee (r)				
Total	1.151	34	2,9539 %	

Cuadro LV

Por lo tanto el antígeno C^W positivo se encontró en 34 ocasiones, ésto es, en el 2,9539 % del total de las sangres investigadas, con las frecuencias distribuídas que aparecen en el cuadro LV; en las 882 muestras Rh₀ (D) positivo se detectaron C^W positivos en 33 casos, - o sea, en el 3,7414 %, en tanto que en las 269 Rh₀ (D) negativo sólo fué positivo 1 vez, es decir, en el 0,3717 %. En el fenotipo R₁^W se aisló en 28 oportunidades (2,4325 %); en el fenotipo R_Z^W en 5 (0,4344 %) y en el fenotipo r'^W en 1 (0,0868 %). Ya discutiremos estas frecuencias con las obtenidas por otros autores.

La transmisión hereditaria del antígeno C^W está fuera de toda duda y en cierto modo tiene valor en casos de exclusión o imputación de la paternidad, dada su escasa frecuencia (2 a 3 %). Como ejemplo referimos el problema siguiente: se nos presentó a consulta una pareja, en la cual el varón era escéptico con respecto a su paternidad en un hijo habido del matrimonio entre ambos; como puede verse en la figura XX, la madre carecía de C^W y el padre e hijo eran C^W positivo, - siendo asimismo compatibles en la familia los otros tres sistemas - sanguíneos, ABO, MNSs y Duffy, estudiados; concluimos que el niño tenía elevadas posibilidades de ser su hijo:

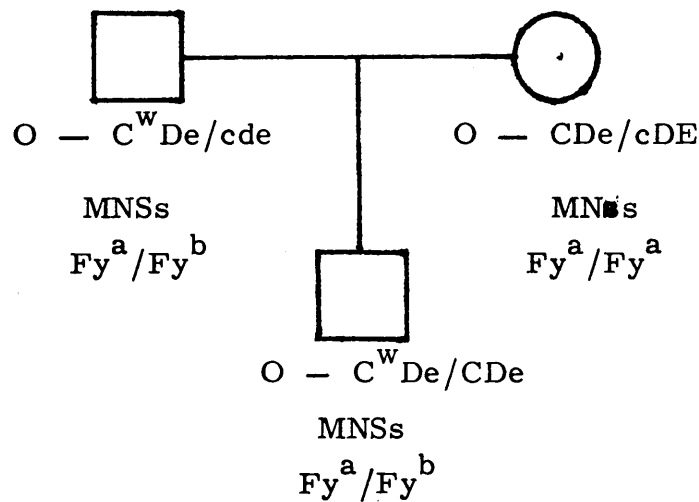


Figura XX

Terminemos resaltando un hecho que hemos observado con cierta asiduidad; la aparición de multiples falsos C^W positivos; de 41 casos 25 eran de fenotipo CcDee, 12 de fenotipo CcDEe y únicamente en 4 aparecía la pareja CC. Esto nos hizo pensar que al no estar bien purificado el suero anti- C^W , vendría asociado a él un anti-c, basándonos para ello en las conclusiones del Laboratorio de Inmunohematología de P. Levine, de París, donde encontraron diversas muestras de la asociación de anti-cuerpos ($\text{anti-}C^W + c$). Con ello queremos significar la trascendencia que tiene seleccionar sueros de calidad y comprobar su especificidad antes de realizar las determinaciones.

B-3) - Variante E^u .-

Esta variante débil del antígeno E fué comunicada por CEPELLI NI y O'RINDEN; reacciona con algunos anti-E y dá algunas reacciones del factor E, pero no todas.

Es extremadamente rara y parece estar ligada al antígeno D en el fenotipo cD E^u.

El procedimiento seguido para su identificación ya quedó informado en la figura XVII y la selección de muestras paralela ~~es a la~~ ~~que~~ ~~llevé~~ a efecto para la variante C^u, pero claro está en personas con ausencia del antígeno E; es decir, nuestro punto de partida fueron los homocigotos del antígeno e (ee) con especial atención a aquellos con Rh₀ (D) positivo, pues, como hemos dicho, parece, la forma E^u estar ligada al antígeno D.

El número total de casos estudiados, según fenotipos, se contempla en el cuadro LVI. Nuestra casuística es nula, ya que no hemos hallado ninguna muestra E^u positiva.

Fenotipos	Muestras analizadas	E ^u positivo
CcDee (R ₁)	383	0
CCDee (R ₁)	199	0
ccDee (R ₀)	42	0
Ccddee (r')	61	0
CCddee (r')	1	0
ccddee (r)	2.113	0
Total	2.799	0

Cuadro LVI

Comentario final.

Los porcentajes de los distintos fenotipos y genotipos del sistema Rh-Hr están irregularmente repartidos, según las poblaciones estudiadas, pero aquellos serán tanto más parecidos cuanto más cercanas sean éstas entre sí. Por ejemplo, en Francia las frecuencias de los seis principales genes son las siguientes:

gen D = 59 %;	gen C = 42 %;	gen E = 15,5 %
gen d = 41 %;	gen c = 57 %;	gen e = 84,5 %

Nosotros, conforme exponíamos en el cuadro XLIII, hemos obtenido frecuencias génicas muy iguales:

gen D = 58,78 %;	gen C = 43,24 %;	gen E = 15,45%
gen d = 41,21 %;	gen c = 56,75 %;	gen e = 84,54%

Pero si el estudio comparativo lo realizamos con zonas más alejadas de nuestras fronteras, las diferencias empiezan a ser más notorias; en el cuadro LVII recogemos las frecuencias de los complejos génicos en diversas naciones y los datos aportados por nuestra casuística (cuadro XLIX). Las discrepancias que pueden apreciarse no obedecen a cálculos erróneos, sino a la impronta genética perteneciente a cada una de las poblaciones examinadas, en virtud de sus intrínsecos mosaicos genéticos; en estas poblaciones, incluida la nuestra, como en su lugar señalamos, se ha comprobado la existencia de equilibrio genético de acuerdo con la ley de HARDEY-WEINBERG; en el mismo cuadro LVII vemos que el orden de frecuencias cromosómicas es igual para las cuatro columnas, con la salvedad de la correspondiente a WIENER, en la cual el complejo génico $r'(Cde)$ es más frecuente que el $r''(cdE)$. Los porcentajes de RACE y colbs. y los que aportamos en ésta tesis son casi un calco uno del otro; la única gran divergencia reside en el complejo $R_z(CDE)$ donde nuestros datos son netamente inferiores; el complejo $R_1(CDe)$ en principio parece ser dispar, pero si sumamos $CDe(0,4076)$ y $C^WDe(0,0129)$ el resultado de R_1 para FISHER será de 0,4205, ésto es, casi idéntico al nuestro.

FRECUENCIAS DE LOS COMPLEJOS GENICOS				
Designación	Inglaterra (RACE y col)	E.E.U.U. (WIENER)	Suecia (HEIKEN)	España (COLINO)
Fisher				
Wiener				
CDe	0,4076	0,41	0,40356	0,420113
cde	0,3886	0,38	0,38205	0,386670
cDE	0,1411	0,15	0,16701	0,144289
cDe	0,0257	0,027	0,01855	0,026231
cdE	0,0119	0,005	0,00295	0,011596
Cde	0,0098	0,006	0,00489	0,010820
CDE	0,0024	0,002	0,00082	0,000280
CdE	0,0000	0,0001	0,00000	0,000000
R ₁				
r				
R ₂				
R ₀				
r''				
r'				
R _Z				
r _y				

Los valores no incluyen las frecuencias de los complejos cpn

C^w; para RACE y colbs C^wDe(0,0129); para HEIKEN y colbs C^wDe(0,01983)
y C^wde(0,00034).

Cuadro LVII

La prueba de χ^2 , tal como la emplean RACE y SANGER ("Los grupos sanguíneos humanos", p.413, 2ª edición), para decidir si dos estadísticas discrepan en forma significativa, puede ser de mucha utilidad para corroborar las diferencias genéticas existentes entre la población española, presentada en este estudio, y la proporcionada por HEIKEN y RASMUSEN, en 1.966, en 8.297 niños suecos; tomamos precisamente esta muestra por contener algunas cifras próximas a las nuestras (cuadros XXXVIII y XXXIX). En el cuadro LVIII reflejamos la comparación de sendos trabajos referidos a los fenotipos; el valor calculado o esperado se halló, para cada fenotipo, multiplicando la suma de las muestras observadas en ambos estudios, para cada fenotipo $(F_e + F_s)$, por el cociente de la división entre el número total de muestras investigadas por nosotros (N_e) ó por HEIKEN (N_s) y el total de muestras observadas en ambos estudios ($N_e + N_s$); ésto es:

$$E_e = (F_e + F_s) \times \frac{N_e}{N_e + N_s} ; E_s = (F_e + F_s) \times \frac{N_s}{N_e + N_s}$$

siendo:

E_e = valores esperados en nuestro trabajo.

E_s = valores esperados en el estudio sueco

F_e = muestras observadas, para cada fenotipo, en nuestro trabajo.

F_s = muestras observadas, para cada fenotipo, por HEIKEN.

Por ejemplo, el valor esperado para el fenotipo R_1 , por nosotros, se determinó así:

$$E_e = (4.407 + 4.330) \times \frac{8240}{8240+8297} = 8737 \times 0,4982765 = 4.353,441$$

El valor de χ^2 lo obtuvimos conforme la fórmula ya conocida:

$$\chi^2 = \frac{(\text{observado} - \text{esperado})^2}{\text{esperado}}$$

FENOTIPOS	PRUEBA DE χ^2 PARA COMPARAR GENÉTICA DE POBLACIONES				$\chi^2 = \frac{(o - e)^2}{e}$
	Valores absolutos observados		Valores absolutos esperados		
	Suecia (HEIKEN)	España (NOSOTROS)	Suecia (HEIKEN)	España (NOSOTROS)	
R ₁	4.330	4.407	8.737 x $\frac{8.297}{16.537}$	8.737 x $\frac{8.240}{16.537}$	0,6543
R ₂	1.293	1.166	2.459 x $\frac{8.297}{16.537}$	2.459 x $\frac{8.240}{16.537}$	2,8466
R ₃	1.263	1.117	2.380 x $\frac{8.297}{16.537}$	2.380 x $\frac{8.240}{16.537}$	3,9754
R ₀	123	173	296 x $\frac{8.297}{16.537}$	296 x $\frac{8.240}{16.537}$	4,3829
r'	34	70	104 x $\frac{8.297}{16.537}$	104 x $\frac{8.240}{16.537}$	6,3335
r''	18	75	93 x $\frac{8.297}{16.537}$	93 x $\frac{8.240}{16.537}$	17,6038
r _y	0	0	0 x $\frac{8.297}{16.537}$	0 x $\frac{8.240}{16.537}$	0,0000
r	1.236	1.232	2.468 x $\frac{8.297}{16.537}$	2.468 x $\frac{8.240}{16.537}$	0,0040
Totales	8.297	8.240	16.537	16.537	35.7995

Cálculo de p con 6 g.l.

36.0491

Quadro LVIII

Puesto que del fenotipo r_y (CdE) no se detectó ningún caso, el número de muestras comparadas es de 7; por ello jugamos con 6 grados de libertad para determinar la probabilidad (p), encontrando que el valor de χ^2 resultante queda fuera de la tabla de probabilidad de FISHER y en definitiva al ser la probabilidad (p) muy pequeña, consideramos que existe una diferencia significativa entre ambas muestras; por todo ello el sello genético de la población sueca es notoriamente distinta de la española; ello viene a confirmar lo apuntado en el apartado de "distribución geográfica del sistema Rh".

Abundando en este asunto, otro ejemplo de la referida separación de frecuencias lo encontramos al cotejar el antígeno D. En Suecia (HEIKEN) está ausente el mencionado antígeno en el 14,596 % de los sujetos; en Inglaterra (RACE) y EE. UU. (WIENER) la privación llega, respectivamente, al 16,8371 % y 15,25 %; para nosotros el porcentaje de dd es del 16,7111 %, parecidos, pues, a los ingleses y lejanos de los suecos y norteamericanos.

En un trabajo anterior, que realizamos en 1.973, sobre 8.683 hemodonadores, el 18,41 % fueron Rh_0 (D) negativo; pero en esta oportunidad la investigación recayó no en una población normal española, como en el momento actual, sino en un amplio y heterogéneo conjunto de donantes, muchos de los cuales tenían nacionalidades diversas y todos ellos acudían siendo conocedores de su grupo sanguíneo, es decir, distorsionaban por esta eventualidad el valor de la casuística..

Terminamos esta sección lamentando no haber dispuesto de anticuerpo anti-f_(ce), ya que su uso nos habría permitido esclarecer con menor posibilidad de error la posición del antígeno c respecto al e en el mismo o distinto cromosoma y consecuentemente nos habría facilitado una más exacta equiparación entre los valores observados y calculados en los genotipos.

Del antígeno D^u ya hicimos algunos comentarios; insistamos, empero, por su interés, sobre su importancia en la enfermedad he-

molítica perinatal y para ello recordamos el caso expuesto en la figura XVIII.

Las frecuencias del antígeno D débil en Europa son variadas; de modo general podemos establecer que para la tripleta Cde (CD^u_e) oscilan entre el 31 y 44 %; para cdE (cd^u_E) entre el 7 y 34 % y para cde (cd^u_e) entre 0,07 y 0,5 %; nosotros afloramos para aquellos fenotipos los porcentajes de 31,0679 % (CD^u_e), 21,5053 % (cd^u_E) y 0,2084 % (cd^u_e); es decir, estamos dentro de los valores aceptados.

El antígeno D^u en sus dos versiones, hereditario y de interacción génica, también hemos tenido ocasión de conocerlo y lo exponemos en las figuras XVIII y XIX.

En cuanto al antígeno C^w la visión del cuadro LIV arroja un primer dato llamativo; nos referimos al genotipo C^w_{de}/cde ($r^w r$) del cual hemos encontrado un caso en las 33 muestras analizadas, lo cual representa una frecuencia del 0,0868 % del total de estudios practicados; creemos que verdaderamente se trata de un hallazgo casual ya que, si bien pese a su extrema rareza ya fué descrito en 1.946 por CALENDER y RACE, su incidencia resulta elevada al confrontarlo con los obtenidos por HEIKEN y RAMUSON (0,0260 %) en población infantil sueca; WIENER en blancos de Nueva York lo aisló en el 0,004 %.

Fuera de esta relativa desviación estadística, el antígeno C^w positivo lo detectamos en el 2,9539 %; pragmáticamente se aceptan valores en la raza blanca entre el 2 y 3 %. La distribución de frecuencias ya quedó expuesta en el cuadro LV, pudiendo colegirse que los datos que aportamos son intermedios entre los de WIENER y RACE y SANGER; en efecto:

Para el fenotipo C^w_{De} (R_1^w) :

WIENER dá porcentajes del	3,3 %
RACE y SANGER los dán del	2,16 %
Nosotros lo obtuvimos del	2,4325 %

Para el fenotipo $C^wDE (R_z^w)$:

WIENER dá porcentajes del	0,61 %
RACE y SANGER los dán del	0,40 %
Nosotros lo obtuvimos del	0,4344 %

Su transmisión hereditaria la ofrecemos en la figura XX.

De las otras dos variantes antigénicas, C^u y E^u , sólo aislamos un posible caso de C^u (cuadro LIII) en el que sería fenotipo $C^ucDEe (R_z)$, ésto es, en el 0,0438 %.

CAPITULO VII

SISTEMA SANGUINEO KELL-CELLANO

Descripción del sistema. Nomenclatura, antígenos y anticuerpos. Genética. - Sistema Kell-Cellano y las enfermedades. - Su distribución geográfica. - Material y métodos de Laboratorio. - Nuestra casuística. - Comentario final.

Descripción del sistema

En el año 1.946, COOMBS, MOURANT y RACE, estudiando a la madre de un niño afectado de enfermedad hemolítica perinatal (EHP), - hallaron un nuevo anticuerpo cuyo correspondiente antígeno fué detectado en el padre y niño; los hematíes de este niño dieron una reacción positiva con la recién descubierta prueba de Coombs y en el suero de la madre el anticuerpo inmune encontrado difería por completo de todos los anticuerpos Ig.G conocidos hasta aquel momento. El antígeno - recibió el nombre del Kell, abreviatura del apellido Kellacher de la familia. Se comprobó, asimismo, que el mencionado anticuerpo aglutinaba los hematíes del esposo y de sus hijos y alrededor del 7 % de las muestras analizadas al azar.

Un año después, 1.947, WIENER y SONN-GORDON detectaron en una señora de 63 años, politransfundida, un nuevo anticuerpo incompleto y su antígeno correspondiente se llamó Si; posteriormente se confirmaría que los antígenos Kell y Si eran similares. En 1.949, DUNSFORD, halla un nuevo ejemplo de antígeno Kell (And); desde ese momento son numerosos los casos que se citan en la literatura médica de antígenos Kell, fijándose en la actualidad en un porcentaje del 10 % aproximadamente las personas Kell positivo en la raza blanca.

En 1.949, LEVINE descubrió un anticuerpo en el suero de una mujer cuyo hijo mostraba leves manifestaciones de E.H.P.; el antígeno correspondiente, llamado Cellano (k), resultó ser, según los estudios del propio LEVINE, alelomorfo codominante del antígeno Kell, comprobando

se que todas las personas Cellano negativas (k -) eran Kell positivo (K +) y que el 99,80 % de los individuos analizados tenían este antígeno (k) en forma homo o heterocigota. De acuerdo con esta teoría se distinguen dos tipos de homocigotos KK y kk y un tipo de heterocigoto Kk.

Ulteriormente en este sistema se han ido integrando nuevos antígenos, Así, en 1.959, ALLEN y LEWIS encontraron en una mujer, de apellido Penney, de genotipo kk, un anticuerpo de formación espontánea y que denominaron anti-Penney; con él se demostró la existencia del antígeno Penney (Kp^a), el cual está presente en alrededor del 2 % de las personas de raza blanca. Los mismos investigadores, a finales del referido año y principios de 1.967, tras laboriosas pesquisas terminaron revelando el antígeno alelomorfo al Kp^a en una persona de apellido Rautenberg y lo llamaron antígeno Rautenberg (Kp^b) y a su anticuerpo anti-Kp^b.

En el año 1.957, CHOWN, KAITA y LEWIS observaron cómo algunas personas mostraban la rareza de carecer de todos los antígenos del sistema Kell, que hemos descrito, empezándose a decir que sus eritrocitos contenían el antígeno Ku y eran de fenotipo Peltz o Ko.

En 1.958, GIBLETT refiere el antígeno Sutter (Js^a); pero éste antígeno sólo se ha comprobado en negros y en un porcentaje del 20 %; el anticuerpo anti-Js^a se ha detectado en blancos transfundidos con sangre Js^a positivo. La existencia del antígeno Matthews (Js^b), alelo a Js^a, fué establecido por WALKER y cols en 1.963 cuando hallaron un anticuerpo en el suero de una mujer negra homocigoto respecto a Js^a.

Los fenotipos "MacLeod" y M^r "Class" serían, respectivamente, descritos por ALLEN, en 1.961, y Van der HART en 1.965. Por último, este mismo año, BOWE identificaba el antígeno K^w.

En definitiva el sistema Kell-Cellano, se define actualmente por tres pares de antígenos alelomorfos, K y k, Kp^a y Kp^b y Js^a y Js^b, los cuales parecen ser controlados por un "locus" complejo de tipo cistrón, y cuyas relaciones genéticas más adelante comentamos.

Nomenclatura, antígenos y anticuerpos.

Los receptores antigénicos de este sistema se sitúan, junto con los pertenecientes a los factores Rh y Duffy, preferentemente en las profundidades de la membrana eritrocitaria y en número aproximado de 3.000 a 8.000 receptores. En el momento del parto ya están definidos y en las secreciones no se han logrado aislar.

El antígeno Kell (K) es sin duda, después de los antígenos integrantes de los sistemas ABO y Rh, el que más capacidad de inmunización posee, comparable a los antígenos E y c del sistema Rh y de aquí la importancia de su estudio, nota ésta que hemos podido corroborar personalmente (ver capítulo "anticuerpos irregulares"). El factor Cellano (k) tiene también una notable inmunogenicidad, pero menos significativa. En efecto, el antígeno Kell se encuentra en cerca del 10 % de la población y casi siempre en forma heterocigota (Kk); si casi el 90 % de los individuos son Kell negativo, esto^{es} ~~es~~ en una transfusión con sangre Kell positivo, las posibilidades de sensibilización al mismo son muy elevadas; por el contrario la frecuencia de anti-k es muy baja toda vez que solamente un 0,2 % de la población es homocigoto Kell positivo (KK) y estos individuos fácilmente pueden formar anti-k.

Inicialmente el sistema Kell-Cellano está constituido por los antígenos Kell y Cellano; posteriormente se fueron sumando nuevos aglutinógenos, algunos de los cuales se discute su inclusión en el mismo; así, últimamente se pretende ubicar los antígenos Kidd dentro del sistema que estamos describiendo, sin que se haya adoptado, hasta el presente, postura definitiva. De aquí el que nosotros limitemos la atención a referir los que no admiten discusión.

El sistema queda formado, como ya se dijo, por tres pares de genes alelomorfos entre sí, que engendran otros tantos pares de antígenos.

El antígeno Kell (K) está presente en cerca del 10 % de los individuos de raza blanca y ausente en los negros; fenotípicamente se expresa como un carácter de doble o sencilla dosis; como se apuntó, está presente en los eritrocitos y, siguiendo a Ducos, en las plaquetas.

El antígeno Cellano (k) está mucho más extendido en la raza blanca, en cerca del 99,8 %; su expresión fenotípica requiere doble dosis, por lo cual debe valorarse como procedente de un gen recesivo; sin embargo se acepta que este antígeno k es codominante del antígeno K; en la raza negra está prácticamente ausente.

Los antígenos Penney (Kp^a) y Rautenberg (Kp^b), se localizan en la raza blanca en el 2 % y 98,9 % de la población, respectivamente; tampoco en la raza negra han sido detectados. Su poder inmunizante es muy inferior al de los antígenos K y k, pero no por ello despreciable; nosotros hemos encontrado, en una embarazada, un caso de anti-D + anti-Kp^a (ver capítulo de anticuerpos irregulares); estos antígenos se transmiten como caracteres dominantes y alelomorfos entre sí; según ALLEN la relación que hay entre los antígenos Kp^a y Kp^b y los K y k sería la misma que hay entre los Cc y Ee del sistema Rh.

En el año 1.957, CHOWN, LEWIS y KAITA descubrieron, en dos hermanas canadienses, oriundas de Polonia y cuyos padres eran primos segundos, un nuevo fenotipo con la característica de estar ausente en él los cuatro antígenos descritos hasta entonces, esto es, K- k- Kp^a - Kp^b-; lo denominaron fenotipo Ko o Peltz, por el apellido de aquellas hermanas. Más tarde aparecieron otros ejemplos de este excepcional fenotipo; los propios autores lo describen, junto con GARD, en una familia finlandesa (Kan); el tercer ejemplo lo aportó CLEGHORN (Lim); en todas las ocasiones se observó que los progenitores eran primos en primer o segundo grado entre sí. La frecuencia es alrededor del 0,01 %. Las personas con tal fenotipo son portadoras de un anticuerpo activo, anti-Ku, que reacciona con todos los eritrocitos excepto con los que disfrutan de este fenotipo; este anticuerpo se comportaría como una mezcla de anticuerpos anti-K, -k, -Kp^a, -Kp^b, es decir, actuaría como un pan-anticuerpo. Los propios ALLEN y LEWIS denotaron la existencia de un antígeno, KU, presente en todos los hematies humanos salvo en los de el fenotipo en cuestión.

El antígeno Sutter (Js^a), GIBLETT (1.958), lo encontró exclusivamente en la raza negra y con una frecuencia, en negros americanos, del 19,55%

El antígeno Matthews, junto con el Sutter, fue considerado durante largo tiempo como un grupo autónomo; después se les asoció genéticamente a los sistema P, Lutheran y Kell; WALKER demostraría su independencia del P Y Lutheran y su integración en el sistema Kell; ésta cuestión será comentada en el apartado de genética. El antígeno Matthews (J_s^b) es un antígeno público en los sujetos de raza blanca y es algo menos frecuente en los negros y dentro de esta raza está más difundido que el antígeno J_s^a . Ambos antígenos, J_s^a y J_s^b , se expresan en dosis doble o sencilla, esto es, los sujetos que poseen J_s^a , tanto homo como heterocigotamente, son Sutter positivos y lo mismo sucede con J_s^b , tanto en los homo como en los heterocigotos, son Matthews positivos.

Como ya apuntábamos BOWE y cols, en 1.965, identificó un nuevo antígeno, que llamarían K^w , presente en el 6 % de los individuos de raza blanca y cuyo anticuerpo anti- K^w , estaría asociado al anticuerpo anti-K en un cierto número de sueros valorados hasta entonces como anti-K puros.

ALLEN; KRABBE y CORCOBAN, en 1.961, evidenciaron un fenotipo próximo al Peltz cuya característica era el reaccionar débilmente con los anticuerpos anti-k, anti- K_p^b y anti- J_s^b ; este nuevo fenotipo se llamó "Mac Leod" y se describe por $K - k + K_p^a - K_p^b + J_s^a - J_s^b +$; los hematies de este tipo son débilmente aglutinados con anti-Ku de sujetos K_o . Se ha observado que los progenitores de las personas con fenotipo "Mac Leod" no son consanguíneos.

El fenotipo Mr "Class", descubierto por Van der HART es idéntico al anterior, pero en su suero hay un anticuerpo que aglutina todos los hematies con los antígenos K, k, K_p^a , K_p^b , J_s^a y J_s^b e incluso los de fenotipo K_o ; este anticuerpo es, en cambio, inactivo frente a los hematies "Mac Leod" y Mr "Class" y define un nuevo antígeno llamado "Kell". Los padres de los sujetos con fenotipo Mr "Class" eran primos segundos entre sí.

En la actualidad se han descrito nuevos antígenos asociados al sistema Kell; estos antígenos se designan por K₁₀, K₁₁ y K₁₂, éste es, antígeno Karula (FURUHJELM, 1.969), antígeno Côté (GUEVIN, 1.971) y antígeno S_p (MARSH, 1.973), respectivamente; la asociación es cierta - pero no se ha podido precisar si es por relación funcional o genética; los anticuerpos correspondientes serían anti-Ul^a, anti-Côté y anti-S_p y tampoco aglutinan los hematies Ko.

En 1.974, STRANGE y cols, citan un anticuerpo inmune, consecuencia a una transfusión sanguínea y del que hacen responsable a un nuevo antígeno, Wk^a, que parece estar presente en alrededor del 0,3 % de hemodonadores ingleses y cerca del 0,1 % de donantes Kell positivo; el mencionado antígeno se incluyó en el sistema Kell-Cellano.

Los anticuerpos dependientes de este sistema son siempre inmunes, pudiéndose confirmar que muy rara vez son naturales. En consecuencia el número de anticuerpos detectables estará en razón proporcional al porcentaje de ausencias y poder sensibilizante de sus correspondiente antígeno. Así, por caso, hasta 1.966 sólo se habían descubierto dos ejemplos de suero anti-Js^b.

El más frecuente de ellos es el anti-K, siendo el producto de inmunización transfusional en cerca del 1 % y de incompatibilidad feto-materna en el 0,4 %; excepcionalmente se han encontrado algunos ejemplos de anti-K salino; en 1.967 únicamente se conocían tres anti-K naturales; LEVINE decía que el anti-K, como el anti-D es más a menudo responsable de E.H.P. cuando la sangre del padre es compatible con la de la madre en el sistema ABO, que cuando es incompatible. El anti-k es mucho menos frecuente si consideramos que sólo el 2 % de las personas, en la raza blanca, son KK que son los únicos candidatos para hacer anti-k.

Los anticuerpos anti -Kp^a, anti-Kp^b y anti-Js^a son más raros de encontrar, pero son responsables, asimismo, de inmunizaciones.

Los anticuerpos anti-Ku y anti-Js^a son excepcionales.

Recientemente (1.974) MARSH y cols han descrito un nuevo anticuerpo anti-K₁₃ que estaría presente en el suero de los sujetos con fenotipo Mac-Leod; este anticuerpo, según los propios investigadores, reaccionó con 1.000 muestras de sangre no seleccionadas y no aglutinaba los hematies de fenotipo Peltz ni, lógicamente, los del fenotipo Mac-Leod.

De lo expuesto se puede apreciar que el sistema Kell-Cellano es más complejo de lo que en principio se suponía y que su interpretación genética, como más adelante veremos, es aún incierta. Es por ello por lo que en 1.961 ALLEN y ROSENFELD propusieron una nueva nomenclatura de los antígenos, similar a la aplicada por ellos al sistema Rh, que no prejuzga nada sobre el mecanismo de transmisión genética; en ésta nomenclatura se asignan a los antígenos un número, según el orden de su descubrimiento, precedido por la letra K. En el cuadro LIX se contempla esta cuestión, haciendo alusión, a la par, de los anticuerpos correspondientes.

Nomenclatura clásica		Nomenclatura de ALLEN-ROSENFELD	
antígeno	anticuerpo	antígeno	anticuerpo
K (Kell)	anti-K	K ₁	anti-K ₁
k (Cellano)	anti-k	K ₂	anti-K ₂
Kp ^a (Penney)	anti-Kp ^a	K ₃	anti-K ₃
Kp ^b (Rautenberg)	anti-Kp ^b	K ₄	anti-K ₄
KU (Peltz)	anti-Ku	K ₅	anti-K ₅
Jsa (Sutter)	anti-Jsa	K ₆	anti-K ₆
Jsb (Matthews)	anti-Jsb	K ₇	anti-K ₇
K ^w	anti-K ^w	K ₈	anti-K ₈
"Kell"	anti-"Kell"	K ₉	anti-K ₉
Ula (Karula)	anti-Ula	K ₁₀	anti-K ₁₀
Côté	anti-Côté	K ₁₁	anti-K ₁₁
Sp	anti-Sp	K ₁₂	anti-K ₁₂
Mac-Leod (1)	? anti-Mac-Leod?	K ₁₃	(2) anti-K ₁₃
Wk ^a (Weeks)	anti-Wk ^a	K ₁₄	(3) anti-K ₁₄

(1) Fenotipo. - (2) anti-K₁₃ no aglutina los hematies Mac-Leod
 (3) nomenclatura aún no definida

Cuadro LIX

Para los fenotipos, siguiendo esta moderna nomenclatura, la expresión sería aplicar la letra K seguida del número que corresponde al antígeno investigado y este número iría o no precedido del signo menos según el antígeno estudiado estuviera ausente o presente en la muestra analizada; así, por ejemplo, para el fenotipo $KK Kp^b Kp^b$ sería $K:1 -2, -3, 4$. Si la aglutinación es débil el número irá precedido de la letra w. En el apartado referido a nuestra casuística volveremos sobre este particular.

Terminemos señalando que los antígenos K y k se desarrollan fundamentalmente durante el nacimiento, pero ya existen en la vida intraútero. Los antígenos Kp^a y Kp^b se desarrollan, también, en el nacimiento y los J_s^a y J_s^b están bien definidos en los ^{ERITROCITOS} eritros del cordón umbilical, incluso el antígeno J_s^a se ha encontrado en un feto negro de 19 semanas.

Genética.

La interpretación genética del sistema Kell-Cellano aún no está resuelta.

Se han sugerido dos teorías:

- a) La existencia de un solo locus complejo controlador de los diferentes antígenos del sistema, y
- b) En contrapunto, para otros está claro que en cuanto a su aplicación práctica a la genética humana, prescindiendo de las variantes excepcionales, se trataría de tres parejas de genes alelomorfos, estrechamente agrupados en tres locus: K y k en el locus Kell, Kp^a y Kp^b en el locus Kp y J_s^a y J_s^b en el locus J_s . Los alelos K y k son responsables de E.H.P. tanto en blancos como en negros; los antígenos dependientes del locus Kp pueden ocasionalmente motivar E.H.P. leve en blancos y los alelos J_s^a y J_s^b establecen diferencias claras entre su presencia en la raza blanca y negra, sin que se sepa si pueden causar E.H.P. Algunos autores, siguiendo la teoría expuesta, justifican la existencia de un cuarto locus que controlaría los fenotipos "Mac-Leod" y "M^rClass".

Situándonos en la primera teoría, RACE y SANGER, hacen las siguientes consideraciones. Según las pruebas que habrían realizado, antes de conocer los antígenos J_s^a y J_s^b , K y k son alelos y K_p^a y K_p^b serían alelos relacionados con K y k, como E y e, en el sistema Rh, están relacionados con C y c; ello admite una posibilidad alterna y es que K_p^a fuera a K y k como C^w es a C y c y anti- K_p^b podía considerarse como anti-Kk; pero este supuesto quedó completamente descartado con el descubrimiento de J_s^a y J_s^b .

Por tanto la tendencia actual está en la creencia de locus separados, pero desde luego no se acepta que los hechos sean así de simples.

Antes de continuar será preciso aclarar cómo se incluyó en este sistema los antígenos J_s^a y J_s^b . Fueron STROUP y cols (1.965), quienes observaron por primera vez cómo las personas de fenotipo Peltz - eran igualmente Js (a- b-) y dado la rareza de ambas circunstancias pensaron que ésta eventualidad no podía ser una coincidencia; después se probarían nuevos casos de esta naturaleza; seguidamente el propio STROUP persistió en sus investigaciones en familias de raza negra Kell positivo y donde estaba presente, asimismo, el antígeno J_s^a . Este postulado fué afirmado por los estudios de MORTON y cols realizados en cuatro matrimonios brasileños con 31 hijos; de la combinación de progenitores $K+J_s^a+$ con $K- J_s^a-$ no nacieron hijos de los tipos $K+$ y J_s^a+ ó $K-J_s^a-$ y sí 11 hijos eran $K+J_s^a-$ y 20 $K- J_s^a+$.

Sobre la base de incidencias observadas se dedujo que en los blancos hay correlación entre $K+$ y J_s^a- y en los negros, al contrario, hay entre $K-$ y J_s^a+ . MORTON y cols. sugirieron la conveniencia de aceptar en el cistrón Kell-Cellano un lugar suplementario para J_s^a y J_s^b ; respecto a la síntesis de k, K_p^a y J_s^a hablaron del alelo k^s y para los antígenos K, K_p^b y J_s^a el alelo K^s ; en teoría cabría admitir un alelo k^{as} que regularía los tipos Cellano, Penney y Sutter, en tanto que los restantes alelos K, k y k^a realizarían la síntesis de J_s^b .

Parece ser que lo más probable es la existencia de cuatro genes,

K, k, k^a y K^o. con las siguientes funciones:

gen K :	síntesis de los antígenos K y Kp ^b
gen k:	síntesis de los antígenos K y Kp ^a
gen k ^a :	síntesis de los antígenos k y Kp ^a
gen K ^o :	síntesis de un antígeno aún desconocido

Cuadro LX

Según esto, Kp^b no sería un producto génico real y anti-Kp^b se podía considerar, como ya apuntaban RACE y SANGER, como anti-Kk y anti-Ku como anti KKp^a. También se podría suponer en una ocasional acción supresora, al principio de la síntesis de los antígenos del sistema Kell, a expensas de una sustancia precursora.

En fin, mucho se podría seguir debatiendo sobre la interpretación genética del sistema en estudio, pero creemos oportuno no redundar más pues con lo invocado tenemos un fiel reflejo de la situación compleja a que aludimos al iniciar el apartado, La decisión final todavía no se atisba y desde luego el problema se someterá a nuevas revisiones.

Las primeras frecuencias génicas y genotípicas fueron publicadas por SANGER y RACE en 1.949 en una población de 1,108 hemodadores ingleses; partiendo del hecho de que el gen K para manifestarse fenotípicamente sólo es necesario en sencilla dosis, hicieron los cálculos siguientes:

-frecuencia del gen k:	$\sqrt{0,9106}$	=	0,9543
-frecuencia del gen K:	1 - 0,9543	=	0,0457
-frecuencia del genotipo KK:	(0,0457) ²	=	0,0021
-frecuencia del genotipo Kk:	0,0457 x 0,9543 x 2	=	0,0872
-frecuencia del genotipo kk:	(0,9543) ²	=	0,9106

Cuadro LXI

Datos éstos que no varían sustancialmente de los revisados posteriormente.

Los estudios realizados sobre el antígeno Kp^a por ALLEN y LEWIS en 1.957, en Boston, arrojan las frecuencias siguientes:

-frecuencia del gen Kp ^b	: $\sqrt{0,9775}$	=	0,9886
-frecuencia del gen Kp ^a	: 1 - 0,9886	=	0,0114
-frecuencia del genotipo Kp ^a Kp ^b	: (0,0114) ²	=	0,0001
-frecuencia del genotipo Kp ^a kp ^b	: 0,0114x0,9886x2	=	0,0225
-frecuencia del genotipo Kp ^b Kp ^b	: (0,9886) ²	=	0,9773

Cuadro LXII

Estos porcentajes, con las lógicas variantes que introducen la localización geográfica de procedencia, han sido confirmadas por CLEGHORN, CHOWN, etc.

En cuanto al par génico Js^a y Js^b su incidencia en negros americanos se estima en:

-frecuencia del gen Js ^a	: 0,1030		
-frecuencia del gen Js ^b	: 0,8970		
-frecuencia del genotipo Js ^a Js ^a	: (0,1030) ²	=	0,0106
-frecuencia del genotipo Js ^a Js ^b	: 0,1030 x 0,8970x2	=	0,1847
-frecuencia del genotipo Js ^b Js ^b	: (0,8970) ²	=	0,8046

Cuadro LXIII

En el apartado referido a distribución geográfica del sistema Kell-Cellano, dejaremos constancia de las distribuciones estadísticas publicadas sobre estas frecuencias.

Consecuentemente, si empleamos únicamente los sueros anti-K y anti-k, obtenemos dos fenotipos pertenecientes a tres posibles genotipos:

Fenotipos:		Genotipos:	
Kell positivo	K + k-	K K	
	K + k+	K k	
Kell negativo	K- k +	k k	

Cuadro LXIV

La inclusión en el estudio de los anticuerpos anti-K, anti-k, anti-Kpa, anti-Kpb y anti-Ku incrementa el número de fenotipos y genotipos a ocho posibilidades:

Fenotipos:		Genotipos:	
Kell+	K 1, 2, 3, 4	KKpb / kKpb	
Kell -	K-1, 2, -3, 4	kKpb / kKpb	
Cellano -	K 1, -2, -3, 4	KKpb / KKpb	
Penney +	K-1, 2, 3, 4	kKpa / kKpb	
Kell +Penney +	K 1, 2, 3, 4	KKpa / kKpb	
Rautenberg—	K-1, 2, 3, 4	kKpa / kKpa	
Tipo Peltz	K-1, -2, -3, -4	- / -	
Tipo MacLeod	K-1, w2, -3, w4	- / -	

w : aglutinación débil

Cuadro LXV

Si a este último estudio le sumamos los sueros anti-Js^a y anti-Js^b, la representación sinóptica del sistema Kell-Cellano es la que queda reflejada en el cuadro LXVI.

Fenotipos:	Anticuerpos						
Nomenclatura de Rosenfield	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄	K ₅	K ₆	K ₇
K 1, -2, -3, 4, 5, -6, 7	+	-	-	+	+	-	+
K-1, 2, -3, 4, 5, -6, 7	-	+	-	+	+	-	+
K-1, 2, 3, -4, 5, -6, 7	-	+	+	-	+	-	+
K-1, 2, -3, 4, 5, 6, -7	-	+	-	+	+	+	-
K-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7	-	-	-	-	-	-	-
K-1, w2, -3, w4, -5, -6, w7	-	<u>+</u>	-	<u>+</u>	-	-	<u>+</u>
K 1, -2, 3, 4, 5, 6, -7	+	-	+	-	+	-	+
K 1, -2, -3, 4, 5, 6, -7	+	-	-	+	+	+	-
K-1, 2, 3, -4, 5, 6, -7	-	+	+	-	+	+	-
K-1, -2, 3, -4, 5, 6, -7	-	-	+	-	+	+	-

Cuadro LXVI

En cuanto a la herencia hagamos las siguientes consideraciones: La unión matrimonial, valorando únicamente los fenotipos teóricos con los antígenos K y k, proporcionan seis cruzamientos posibles, según se aprecia en el cuadro LXVII.:

K K	x	K K	K k	x	K k
K K	x	K k	K k	x	k k
K K	x	k k	k k	x	k k

Cuadro LXVII.

Pero si en estos cruzamientos valoramos los genotipos resultantes de trabajar con cuatro antisueros (anti-K, anti-k, anti-Kp^a y anti-Kp^b), los genotipos posibles en la descendencia vendrían dados en razón de los veintidós cruzamientos teóricos posibles entre los padres (cuadro LXVIII).

$KKp^b/kKp^b \times KKp^b/kKp^b$	$KKp^b/KKp^b \times KKp^b/KKp^b$
$KKp^b/kKp^b \times kKp^b/kKp^b$	$KKp^b/KKp^b \times kKp^a/kKp^b$
$KKp^b/kKp^b \times KKp^b/KKp^b$	$KKp^b/KKp^b \times KKp^a/kKp^b$
$KKp^b/kKp^b \times kKp^a/kKp^b$	$KKp^b/KKp^b \times kKp^a/kKp^a$
$KKp^b/kKp^b \times KKp^a/kKp^b$	$kKp^a/kKp^b \times kKp^a/kKp^b$
$KKp^b/kKp^b \times kKp^a/kKp^a$	$kKp^a/kKp^b \times KKp^a/kKp^b$
$kKp^b/kKp^b \times kKp^b/kKp^b$	$kKp^a/kKp^b \times kKp^a/kKp^a$
$kKp^b/kKp^b \times KKp^b/KKp^b$	$KKp^a/kKp^b \times KKp^a/kKp^b$
$kKp^b/kKp^b \times kKp^a/kKp^b$	$KKp^a/kKp^b \times kKp^a/kKp^a$
$kKp^b/kKp^b \times KKp^a/kKp^b$	$kKp^a/kKp^a \times kKp^a/kKp^a$
$kKp^b/kKp^b \times kKp^a/kKp^a$	

Cuadro LXVIII

Y por supuesto la complejidad del sistema es mucho mayor si los cruzamientos se verifican con inclusión de los antígenos Sutter y Mathews. Pero este aspecto tiene para nosotros valor secundario toda vez que en el estudio no hemos investigado estos antígenos pues el J_s^a , como se recordará, no está presente, al menos en teoría, en la población española.

Sistema Kell-Cellano y las enfermedades. - Su distribución geográfica. -

Hasta el presente los antígenos de este sistema no se han relacionado con ninguna enfermedad, pero hay ciertas sospechas de que el antígeno Kell sea más frecuente en enfermos afectados de mongolismo que en personas normales.

Sobre la frecuencia de los antígenos en estudio en la raza blanca ya hemos hablado al hacer la descripción del sistema. Ahora también, igual que sucede con otros grupos antigénicos, su presencia fluctúa en mayor o menor grado según la procedencia de los indivi-

duos sometidos a investigación.

Los estudios realizados en familias europeas con empleo único de suero anti-K, y en consecuencia sin diferenciar los homo y heterocigotos en los Kell positivo, arrojan los resultados que siguen:

	<u>Kell positivo</u> (Kk ó Kk)	<u>Kell negativo</u> (kk)
Inglaterra (Race y Sanger)	9,6868 %	90,3131 %
Dinamarca (Linnet-Jensen)	5,9496 %	94,0503 %
Suecia (Heiken)	5,2401 %	94,7598 %
Noruega (Mohr)	11,6853 %	88,3146 %
Holanda (v. d. Weerd)	2,9702 %	97,0297 %
Suiza (Greuter)	3,4482 %	96,5517 %

Podemos sumar a estos datos los recogidos en Pisa con frecuencias del antígeno Kell de 2,65 %, Bonn (5 %), Rostock (10 %), Francia (10 %) y Polonia (11,30 %). Se aprecian, pues, notables variaciones y sin embargo el referido antígeno tiene su máxima incidencia en Europa; en poblaciones no europeas es mucho más rara su aparición, con excepción de los indígenas Caingua (23,29 %) y bosquimanos (10,38 %). Si quisiéramos ajustar porcentajes extremos, en uno estarían los mencionados indígenas Caingua y en el otro, negros (0, a 1,70 %) e indostánicos (0 a 10 %).

Un sondeo realizado en Francia desveló los resultados siguientes:

-frecuencia del genotipo K K	0,20 %
-frecuencia del genotipo K k	9,80 %
-frecuencia del genotipo k k	90 %

En Estados Unidos, GRIFFITTS y ELLIOT hicieron una prospección en 1.965 y obtuvieron los datos:

-frecuencia del genotipo K K	0,20 %
-frecuencia del genotipo K k	8,60 %
-frecuencia del genotipo k k	91,20 %

La frecuencia de los antígenos Kp^a y Kp^b en personas de raza blanca ofrecen también oscilaciones, pero menos acusadas que la pareja K y k, tal como se contempla seguidamente:

	<u>antígeno Kp^a</u>	<u>antígeno Kp^b</u>
Boston (Allen-Lewis)	2,6 %	97,84 %
Londres (Cleghorn)	2,45 %	97,55 %
París (Salmon)	1,62 %	98,38 %
Winnipeg (Chown)	2,51 %	97,49 %

El antígeno Sutter (Js^a) hasta el momento no ha sido aislado en la raza blanca y parece ser un atributo genético de la raza negra; no se ha encontrado en indios americanos ni esquimales (CORCORAN) y tampoco en asiáticos (GIBETT). RACE y SANGER curiosamente hallaron en una muestra de 50 personas blancas un solo caso de Js^a positivo, pero en multitud de pruebas verificadas por ellos posteriormente no han vuelto a encontrar ningún ejemplo. El antígeno Mathews (Js^b) es público en blancos y en negros está más difundido que el Js^a.

La incidencia génica para Js^a en los negros se estima en 0,103 % y de 0,897 para Js^b; conforme estos datos las frecuencias de los genotipos serían:

Js ^a Js ^a	0,0106
Js ^a Js ^b	0,1848
Js ^b Js ^b	0,8046

Material y métodos de Laboratorio. -

Ya en la introducción dejábamos constancia de cómo para la investigación de los antígenos eritrocitarios de este sistema - nos habíamos servido de hemodonantes y enfermos ingresados en el Hospital Clínico de San Carlos, nacidos dentro de nuestras fronteras, todos de ascendencia española, adultos, de ambos sexos, no familiares entre sí, pero de diversas procedencias dentro de la geografía ibérica.

Las muestras de sangre empleadas para el estudio fueron extraídas en el mismo día de la prueba.

El número de receptores antigénicos es muy inferior, como se comentaba en el apartado "material y fundamentos de los grupos sanguíneos" del capítulo IV, al que disponen los sistemas ABO y Rh, y además están situados en las profundidades de la membrana eritrocitaria; por ello las reacciones antígeno-anticuerpo son débiles para los antígenos Kp^a y Kp^b y por ende es obligada una lectura cuidadosa de los resultados.

Los métodos enzimáticos (bromelina, papina, etc.) no se pueden aquí emplear ya que los determinantes antigénicos del sistema Kell-Ce llano son destruidos por estas enzimas. Tampoco es recomendable el tratamiento de los eritrocitos, problema, con medios albuminoideos.

Para la determinación se utilizaron antisueros humanos, de alta calidad y previamente probados, cada lote, con controles positivos y negativos. Los antígenos en estudio reaccionan por tanto con sueros an tihumanos de especificidad anti- γ -globulina y algunos también con suero anti-no- γ -globulina, por lo cual parecen ser mezclas de anticuerpos γ -globulina y no- γ -globulina.

Los procedimientos seguidos fueron los siguientes. Todas las muestras fueron sometidas a lavados en solución fisiológica salina al 0.9 %.

a) - Determinación del antígeno Kell (K):

a.I - Método en porta-objetos:

-una vez lavados los hematies, se elimina el sobrenadante de solución salina y plasma y se prepara una suspensión al 30-40 % de estos hematies en solución fisiológica.

-sobre un portaobjetos a temperatura ambiente se coloca una gota de hematies y se agrega una gota de suero anti-K.

-mezclamos bien y se busca aglutinación macroscópica en un tiempo no superior a los dos minutos; si pasado este límite no hay aglutinación debe interpretarse como una muestra Kell negativo (kk).

a.II - Método en tubo con antiglobulina de Coombs:

Se sigue el mismo procedimiento que citamos para los antígenos k y Kp^a.

b) - Determinación de los antígenos Cellano (k) y Penney (Kp^a):

-Preparamos una suspensión al 2-5 % de hematies a investigar, lavados previamente con solución fisiológica salina.

-En un tubo rotulado colocamos dos gotas de la suspensión de hematies y añadimos dos gotas de suero anti-k o anti-Kp^a, según el antígeno que se estudie.

-Mezclamos bien e incubamos en un baño de agua a 37 ° C. durante 30 minutos.

-Llenamos el tubo con solución fisiológica salina al 0.9 %, mezclamos, centrifugamos y extraemos el sobrenadante salino. Repetimos esta operación de lavado hasta haber efectuado tres cambios completos en solución salina. Tras el último lavado retiramos el sobrenadante.

- Al sedimento celular le agregamos dos gotas de suero antiglobulina de Coombs y mediante agitación mezclamos bien. Se deja en reposo dos minutos.
- Seguidamente centrifugamos los tubos en serofuga modelo Clay-Adams, a 3.000 r.p.m. durante un minuto.
- Por último agitamos suavemente y examinamos macroscópicamente la ausencia o presencia de aglutinación.
- Se anotan los resultados.

c) - Determinación del antígeno Rautenberg (Kp^b):

- Preparamos una suspensión al 2-5 % de los hematies problema, lavados previamente una vez en solución salina fisiológica al 0,9 %.
- En un tubo rotulado, colocamos 0,1 ml. de suero anti-Kp^b y añadimos 0,1 ml. de la suspensión de hematies preparada.
- Mezclamos durante 10 a 15 segundos y dejamos el tubo a temperatura ambiente (20-25° C). por tiempo de 30 minutos.
- Centrifugamos dos minutos a 3.000 r.p.m. en serofuga modelo Clay-Adams.
- Hacemos lectura macroscópica y por agitación suave.
- La ausencia de aglutinación la interpretamos como Kp^b negativo.

Tanto el suero anti-Kp^a como el suero anti-Kp^b nos lo proporcionaron en forma liofilizada, siendo necesaria su reconstitución con 1 ml. de agua destilada y estéril. Cuando por alguna razón el empleo de los antisueros así reconstituidos tuvimos que demorarlo para días posteriores, lo conservamos congelado y nunca por tiempo superior a los cinco días.

Nuestra casuística. -

Las muestras de sangre empleadas para la investigación que referimos procedían de las personas citadas en el anterior apartado.

El trabajo incluye los antígenos K, k, Kp^a y Kp^b; los antígenos Js^a y Js^b por las razones ya aducidas no interesaban en nuestra prospección, si bien en el momento de desarrollar el estudio hemos iniciado los primeros sondeos de estos últimos antígenos.

Se investigaron 1.680 muestras de sangre y sirviéndonos de los sueros correspondientes hallamos los resultados.

Anti- K aglutinó a	127	muestras
Anti-k aglutinó a	1.676	muestras
Anti- Kp ^a aglutinó a	82	muestras
Anti- Kp ^b aglutinó a	1.678	muestras

Cuadro LXIX

Por ende, la frecuencia de presentación de los antígenos fué:

Antígeno Kell	7,559523	%
Antígeno Cellano	99,761904	%
Antígeno Penney	4,880952	%
Antígeno Rautenberg	99,880952	%

Cuadro LXX

Siendo la frecuencia observada de genotipos:

GENOTIPOS	FRECUENCIAS Valor absoluto	OBSERVADAS Valor decimal
K K	4	0,002380
K k	123	0,073214
k k	1.553	0,924404
<hr/>		
Total	1.680	0,999998
<hr/>		
Kp ^a Kp ^a	2	0,001190
Kp ^a Kp ^b	80	0,047619
Kp ^b Kp ^b	1.598	0,951190
<hr/>		
	1.680	0,999999

Cuadro LXXI

Se calculó la frecuencia génica en esta población y la frecuencia de los diferentes genotipos teóricos para ver su coincidencia con los datos obtenidos en nuestra investigación:

Las frecuencias génicas se determinaron aplicando las fórmulas de WIENER y VAISBERG:

$$p : \text{gen K} = \frac{KK + 1/2 Kk}{N} = \frac{4 + 1/2 \times 123}{1.680} = 0,038988.$$

$$q : \text{gen k} = \frac{kk + 1/2 Kk}{N} = \frac{1.553 + 1/2 \times 123}{1.680} = 0,961011.$$

$$p + q = 1; \quad 0,038988 + 0,961011 = 0,999999.$$

$$r : \text{gen Kp}^a = \frac{Kp^aKp^a + 1/2 Kp^aKp^b}{N} = \frac{2 + 1/2 \times 80}{1.680} = 0,025000.$$

$$s: \text{gen } Kp^b = \frac{Kp^b Kp^b + 1/2 Kp^a Kp^b}{N} = \frac{1.598 + 1/2 \times 80}{1.680} = 0,974999$$

$$r + s = 1 \quad ; \quad 0,025000 + 0,974900 = 0,999999.$$

Por lo que las frecuencias génicas fueron:

Frecuencia del gen K	0,038988
Frecuencia del gen k	0,961011
Frecuencia del gen Kp^a	0,025000
Frecuencia del gen Kp^b	0,974999

Cuadro LXXII

A continuación, a partir de estas frecuencias génicas, dedujimos las frecuencias calculadas de los genotipos correspondientes a los genes Kell y Cellano, valiéndonos para ello de las fórmulas siguientes:

FRECUENCIAS CALCULADAS

<u>Valor decimal:</u>		
Frecuencia del genotipo K K =	$(0,038988)^2$	= 0,001520
Frecuencia del genotipo K k =	$0,038988 \times 0,961011 \times 2$	= 0,074935
Frecuencia del genotipo k k =	$(0,961011)^2$	= 0,923542
<u>Valor absoluto:</u>		
Frecuencia del genotipo K K =	$1.680 \times 0,001520$	= 2,553
Frecuencia del genotipo K k =	$1.680 \times 0,074935$	= 125,891
Frecuencia del genotipo k k =	$1.680 \times 0,923542$	= 1.551,550

Cuadro LXXIII

En definitiva los cuadros LXXI y LXXIII se pueden compendiar en el cuadro LXIV.

FRECUENCIA DE LOS GENOTIPOS KELL- CELLANO

GENO-TIPO	FRECUENCIA	OBSERVADA	FRECUENCIA	CALCULADA
	Valor absoluto	Valor decimal	Valor absoluto	Valor decimal
K K	4	0,002380	2,553	0,001520
K k	123	0,073214	125,891	0,074935
k k	1553	0,924404	1551,550	0,923542
Total	1680	0,999999	1679,994	0,999999

Cuadro LXXIV

Comparemos en los genotipos los valores absolutos observados con los calculados, con el fin de determinar si existe equilibrio genético en la muestra analizada:

$$\chi^2 = \frac{(4 - 2,553)^2}{2,553} + \frac{(123 - 125,891)^2}{125,891} + \frac{(1553 - 1551,550)^2}{1551,550}$$

$$= 0,8201 + 0,0663 + 0,0013 = 0,8877.$$

La probabilidad (p) para este valor de χ^2 , con un grado de libertad, está comprendida entre 0,30 y 0,40, es decir, no habría diferencia significativa. Pero para ratificar esta cuestión debemos recurrir al método de YATES.

Ya dejamos constancia en otro lugar de las restricciones que al trabajar con χ^2 hay que tomar; una de ellas era que ninguna de las clases de las muestras observadas podía tener una frecuencia absoluta menor de 5 y que en estos casos tendríamos que hacer valer la llamada "corrección por continuidad de YATES"; el método consiste en modificar los quebrados cuyas sumas son χ^2 , restando o sumando a la diferencia entre los valores observados y calculados (O - C) el valor 0,5 antes de elevar al cuadrado, según la diferencia sea positiva o negativa y tomar luego como probabilidad -

el término medio entre la probabilidad resultante sin corrección y con ella; es decir:

$$\frac{O - C}{C} = \left\{ \begin{array}{l} \frac{(+ D - 0,5)^2}{C} = \chi^2 \\ \frac{(- D + 0,5)^2}{C} = \chi^2 \end{array} \right.$$

Siendo O = frecuencia observada

C = frecuencia calculada

D = diferencia entre O y C

En consecuencia, el método de YATES debe ser aquí aplicado pues el valor absoluto del genotipo KK es de 4, siguiendo el proceder arriba indicado, tendremos para χ^2 :

$$\frac{4 - 2,553}{2,553} = \frac{(+ 1,447 - 0,5)^2}{2,553} = 0,3512$$

$$\frac{123 - 125,891}{125,891} = \frac{(- 2,891 + 0,5)^2}{125,891} = 0,0454$$

$$\frac{1553 - 1551,550}{1551,550} = \frac{(+ 1,45 - 0,5)^2}{1551,550} = 0,0006$$

$$\text{Total } \chi^2 = 0,6424$$

$$\text{luego: } \chi^2 = \frac{0,8877 - 0,6424}{2} = 0,3972$$

Para este valor de χ^2 (0,3972) hallamos una probabilidad (p) externa o derecha comprendida entre 0,50 y 0,60, es decir, la probabilidad de error de nuestro trabajo oscila entre el 50 % y 60 %, por lo cual la diferencia entre las frecuencias observada y

calculada , pertenecen al mismo universo y hay por ello equilibrio genético en los genes Kell y Cellano.

Partiendo del equilibrio genético aceptado, podemos establecer los distintos cruzamientos posibles a expensas de las frecuencias teóricas de dichos cruzamientos (cuadro LXXV) ; por consiguiente, según nuestra casuística, las frecuencias calculadas para los diferentes cruzamientos será las que notificamos en el cuadro LXXVI.

<u>Cruzamientos posibles</u>	<u>Frecuencias teóricas de genotipos</u>
K K x K K	K^4 $(0,038988)^4$
K K x K x	$4K^3k$ $4 x (0,038988)^3 x (0,961011)$
K K x k k	$2K^2k^2$ $2 x (0,038988)^2 x (0,961011)^2$
K k x K k	$4K^2k^2$ $4 x (0,038988)^2 x (0,961011)^2$
K k x k k	$4Kk^3$ $4 x (0,038988) x (0,961011)^3$
k k x k k	k^4 $(0,961011)^4$

Cuadro LXXV

<u>Cruzamientos posibles</u>	<u>Frecuencias calculadas</u>
K K x K K	0,0000023
K K x K k	0,0002277
K K x k k	0,0028075
K k x K k	0,0056151
K k x k k	0,1384126
k k x k k	0,8529298
Total	0,9999950

Cuadro LXXVI

Asimismo se puede establecer una distribución de frecuencias

esperadas o calculadas de los genotipos Kell o Cellano en padres e hijos con los resultados que refleja el cuadro LXXXII.

Todos los computos efectuados con los factores Kell y Cellano serán aplicados seguidamente a los antígenos Penney y Rautenberg.

En los cuadros LXX, LXXI y LXXII ya hemos fijado los porcentajes, frecuencias observadas de genotipos y frecuencias génicas, respectivamente, de estos factores. Nos resta por determinar las frecuencias calculadas de los genotipos y para ello nos valdremos de las fórmulas conocidas:

FRECUENCIAS CALCULADAS

<u>Valor decimal:</u>	
Frecuencia del genotipo $Kp^a Kp^a$	$= (0,025000)^2 = 0,000625$
Frecuencia del genotipo $Kp^a Kp^b$	$= 0,025000 \times 0,974999 \times 2 = 0,048749$
Frecuencia del genotipo $Kp^b Kp^b$	$= (0,974999)^2 = 0,950623$

<u>Valor absoluto:</u>	
Frecuencia del genotipo $Kp^a Kp^a$	$= 1.680 \times 0,000625 = 1,050$
Frecuencia del genotipo $Kp^a Kp^b$	$= 1.680 \times 0,048749 = 81,899$
Frecuencia del genotipo $Kp^b Kp^b$	$= 1.680 \times 0,950623 = 1597,046$

Cuadro LXXVII

Unificando los cuadros LXXI y LXXVII, como hicimos con K y k, resultará:

FRECUENCIA DE LOS GENOTIPOS PENNEY - RAUTENBERG

GENO-TIPO	FRECUENCIA OBSERVADA		FRECUENCIA CALCULADA	
	Valor absoluto	Valor decimal	Valor absoluto	Valor decimal
$Kp^a Kp^a$	2	0,001190	1,050	0,000625
$Kp^a Kp^b$	80	0,047619	81,899	0,048749
$Kp^b Kp^b$	1.598	0,951190	1.597,046	0,950623
Total	1.680	0,999999	1.679,995	0,999997

Cuadro LXXVIII

Comparando en el cuadro anterior los valores absolutos observados con los calculados, a fin de ver si hay equilibrio genético en las muestras investigadas:

$$\chi^2 = \frac{(2 - 1,050)^2}{1,050} + \frac{(80 - 81,899)^2}{81,899} + \frac{(1598 - 1597,046)^2}{1.597,046} =$$

$$= 0,8595 + 0,440 + 0,0005 = 0,904$$

Para este valor de χ^2 (0,904), con un grado de libertad, se comprueba que la probabilidad (p) está comprendida entre 0,30 y 0,40, lo cual quiere decir que no hay diferencia significativa.

Para confirmar recurrimos al método de YATES, pues el genotipo Kp^aKp^a tiene un valor absoluto de 2; tendremos para χ^2 :

$$\frac{2 - 1,050}{1,050} = \frac{(+0,95 - 0,5)^2}{1,050} = 0,1928$$

$$\frac{80 - 81,899}{81,899} = \frac{(-1,899 + 0,5)^2}{81,899} = 0,0238$$

$$\frac{1598 - 1597,046}{1.597,046} = \frac{(+0,954 - 0,5)^2}{1.597,046} = 0,0001$$

$$\text{Total } \chi^2 = 0,2167$$

$$\text{luego: } \chi^2 = \frac{0,904 + 0,2167}{2} = 0,5603$$

Para este valor de χ^2 (0,5603) la probabilidad (p) externa o derecha está comprendida entre 0,40 y 0,50, lo cual quiere decir que no hay diferencia significativa y por ende las muestras analizadas se encuentran en equilibrio genético para los genes Penney y Rautenberg.

Seguidamente, considerando éste equilibrio genético, establecemos los distintos cruzamientos posibles, a partir de las frecuencias teóricas de dichos cruzamientos de genotipos:

<u>Cruzamientos posibles</u>	<u>Frecuencias teóricas de genotipos</u>
$Kp^aKp^a \times Kp^aKp^a \dots (Kp^a)^4 \dots (0,025000)^4$	
$Kp^aKp^a \times Kp^aKp^b \dots 4 (Kp^a)^3Kp^b \dots 4 \times (0,025000)^3 \times (0,974999)$	
$Kp^aKp^a \times Kp^bKp^b \dots 2 (Kp^a)^2(Kp^b)^2 \dots 2 \times (0,025000)^2 \times (0,974999)^2$	
$Kp^aKp^b \times Kp^aKp^b \dots 4 (Kp^a)^2(Kp^b)^2 \dots 4 \times (0,025000)^2 \times (0,974999)^2$	
$Kp^aKp^b \times Kp^bKp^b \dots 4 Kp^a(Kp^b)^3 \dots 4 \times (0,025000) \times (0,974999)^3$	
$Kp^bKp^b \times Kp^bKp^b \dots (Kp^b)^4 \dots (0,974999)^4$	

Cuadro LXXIX

En el cuadro LXXX se contemplan los resultados de los estudios verificados con las frecuencias calculadas para los diferentes cruzamientos.

<u>Cruzamientos posibles</u>	<u>Frecuencias calculadas</u>
$Kp^aKp^a \times Kp^aKp^a \dots$	0,0000003
$Kp^aKp^a \times Kp^aKp^b \dots$	0,0000608
$Kp^aKp^a \times Kp^bKp^b \dots$	0,0011882
$Kp^aKp^b \times Kp^aKp^b \dots$	0,0023764
$Kp^aKp^b \times Kp^bKp^b \dots$	0,0926856
$Kp^bKp^b \times Kp^bKp^b \dots$	0,9036840
Total	0,9999953

Cuadro LXXX

De igual modo hacemos una distribución de frecuencias esperadas o calculadas de los genotipos Penney-Reutenberg en padres e hijos; ésta distribución puede apreciarse en el cuadro LXXXIII.

Finalmente, en el cuadro LXXXI que a continuación exponemos, siguiendo la nomenclatura de ALLEN y ROSENFELD, se detallan los porcentajes de los distintos genotipos del sistema en estudio:

GENOTIPOS	Anti-K ₁	Anti-K ₂	Anti-K ₃	Anti-K ₄	Nº casos	%
K: -1, 2, -3, 4	-	+	-	+	1.479	88,035
K: -1, 2, 3, 4	-	+	+	+	72	4,285
K: -1, 2, 3, -4	-	+	+	-	2	0,119
K: 1, 2, -3, 4	+	+	-	+	115	6,845
K: 1, 2, 3, 4	+	+	+	+	8	0,476
K: 1, -2, -3, 4	+	-	-	+	4	0,238
Total					1.680	99,99

Cuadro LXXXI

Dada la escasa frecuencia de los fenotipos Peltz (0,01 %) y Mac Leod (0,01 %) , no hemos encontrado los mismos en ninguna muestra estudiada.

Comentario final.

Abordamos este capítulo movidos por el mismo interés que nos impulsó a estudiar los restantes sistemas descritos en la tesis. Esto es, un mejor conocimiento de los antígenos portados en la sangre destinada a la transfusión y en la de los propios receptores.

En otro lugar afirmábamos la gran capacidad inmunizante del antígeno Kell (K), comparable a los antígenos E y c del sistema Rh; se-

G E N O T I P O S

PAREJAS	FRECUENCIAS Calculadas		H I J O S				
	Cruzamientos		K K	K k	k k	FRECUENCIAS TEORICAS	FRECUENCIAS CALCULADAS
K K x K K	0,0000023	K^4	—	—	—	0,0000023	—
K K x K k	0,0002277	$2K^3k$	$2K^3k$	—	—	0,0001138	0,0001138
K K x k k	0,0028075	$2K^2k^2$	$2K^2k^2$	—	—	—	0,0028075
K k x K k	0,0056151	K^2k^2	$2K^2k^2$	K^2k^2	—	0,0014037	0,0028075
K k x k k	0,1384126	$2Kk^3$	$2Kk^3$	$2Kk^3$	—	—	0,0692063
k k x k k	0,8529298	k^4	—	k^4	—	—	0,8529298
Total	0,9999950					0,0015198	0,0749351
							0,9235398

Relación de frecuencias teóricas y calculadas para la descendencia de los genes K y k, según resultados de nuestro trabajo

Cuadro LXXXII

G E N O T I P O S									
PAREJAS		FRECUENCIAS CALCULADAS		HIJOS				FRECUENCIAS CALCULADAS	
Cruzamientos		$K_p^a K_p^a$	$K_p^a K_p^b$	$K_p^a K_p^b$	$K_p^b K_p^b$	$K_p^a K_p^a$	$K_p^a K_p^b$	$K_p^b K_p^b$	$K_p^b K_p^b$
$K_p^a K_p^a$	\times	$K_p^a K_p^a$	0,0000003	—	—	0,0000003	—	—	—
$K_p^a K_p^b$	\times	$K_p^a K_p^b$	0,0000608	$2(K_p^a)^2 K_p^b$	—	0,0000304	0,0000304	—	—
$K_p^a K_p^b$	\times	$K_p^b K_p^b$	0,0011882	$2(K_p^a)^2 (K_p^b)^2$	—	—	0,0011882	—	—
$K_p^b K_p^b$	\times	$K_p^a K_p^b$	0,0023764	$2(K_p^b)^2 (K_p^a)^2$	$(K_p^b)^2 (K_p^a)^2$	0,0005941	0,0011882	0,0005941	—
$K_p^a K_p^b$	\times	$K_p^a K_p^b$	0,0926856	$2(K_p^a)^2 (K_p^b)^3$	$2(K_p^b)^2 (K_p^a)^3$	—	0,0463428	0,0463428	—
$K_p^b K_p^b$	\times	$K_p^b K_p^b$	0,9036840	—	$(K_p^b)^4$	—	—	—	0,9036840
Total		0,9999953		0,0006248		0,0487496		0,9506209	

Relación de frecuencias teóricas y calculadas para la descendencia de los genes K_p^a y K_p^b , según resultados de nuestro trabajo
Cuadro LXXXIII

cundariamente los restantes antígenos que configuran este sistema - conllevan, también, riesgo potencial de inmunización. De hecho, hemos detectado once anticuerpos inmunes de este sistema (ver capítulo X), lo cual representa el 4,803% (ver cuadro CXXXIII) de los 229 anticuerpos irregulares por nosotros aislados, porcentaje nada despreciable; de los mismos, ocho casos correspondían a anti-Kell (anti-K), dos a anti-Penney (anti-Kp^a) y un caso a anti-Sutter (anti-Js^a); es más detectamos otro caso de anti-D + Kp^a, cuya frecuencia es aproximadamente de 1 en 50.000.000.

Estos datos, por tanto, justifican por sí solos el trabajo. - Pero, asimismo, el estudio nos permitió establecer las frecuencias génicas en la población española, valorables desde el momento en que, como quedó expuesto, al comparar las frecuencias calculadas y observadas en las muestras examinadas, se apreció, conforme la ley de Hardey-Weinberg, un claro equilibrio genético.

De otro lado, lo desarrollado a lo largo del capítulo nos induce a los comentarios que a continuación transcribimos. Al examinar otros sistemas de antígenos eritrocitarios, tales como ABO, Rh y Duffy, se alumbraba una clara topografía génica de los mismos, hasta el punto de permitirnos hacer hipótesis acerca de la endo o exo gamia genética de los pueblos. En el sistema Kell-Cellano este aspecto queda más difuminado; ni siquiera la teórica división de poblaciones en nórdicos, latinos, etc., es decir, por zonas geográficas, rompe esta oscuridad. No obstante, al hacer la valoración étnica - surge un hecho obvio; los antígenos Sutter (Js^a) y Mathews (Js^b) se manifiestan como atributos genéticos de la raza negra, si bien éste último (Js^b) es público en la raza blanca. Actualmente estamos completando éste sistema con la inclusión de los antígenos Js^a y Js^b y hemos hallado un hecho que, pendiente de confirmación, puede tener un transcendental significado; se trata del descubrimiento de un donador de sangre (E.G.V.), de raza blanca y sin ascendientes negros, con antígeno Js^a y ausencia de Js^b en un genotipo K:-1, 2, -3, 4, 6, -7.

FENOTIPOS	GENOTIPOS		E. E. U. U.	INGLATERRA	FRANCIA	NOSOTROS
	Común	Rosenfield				
Keil -	k Kp ^b /k Kp ^b	Ks-1,2,-3,4	0,8800	0,8800	0,8900	0,8803
Penney +	k Kp ^a /k Kp ^b	Ks-1,2,3,4	0,0210	0,0200	0,0200	0,0428
Rautenberg -	k Kp ^a /k Kp ^a	Ks-1,2,3-4	0,0001	0,0002	0,0010	0,0019
Keil +	K Kp ^b /k Kp ^b	Ks 1,2-3,4	0,0900	0,0900	0,0900	0,0047
Keil + Penney +	K Kp ^b /k Kp ^a	Ks 1,2,3,4	0,0010	0,0040	0,0020	0,0047
Cellano -	K Kp ^b /K Kp ^b	Ks 1,-2,-3,4	0,0020	0,0025	0,0030	0,0023

Análisis comparativo de fenotipos entre las frecuencias
halladas en distintas naciones y nuestro estudio.

Cuadro LXXXIV

Por contra los antígenos K, k, Kp^a y Kp^b, son cási exclusivos de personas blancas europeas u oriundas de Europa, con la excepción de los indios Caingua y de un grupo de africanos, próximos a los pigmeos, llamados bosquimanos.

En el cuadro LXXXIV planteamos un análisis comparativo de diferentes frecuencias de fenotipos citadas por distintos autores.

La visión de este cuadro atestigua una aceptable igualdad de resultados para los fenotipos Kell - (kKp^b/kKp^b) y Cellano - (KKp^b/KKp^b), afinidad con el fenotipo Rautenberg - (kKp^a/kKp^a) de la escuela francesa y disarmonía con éste fenotipo de las escuelas inglesas y norteamericana; el Kell + Penney ~~+~~ está próximo a los ingleses; las diferencias más claras entre nuestra casuística y las reflejadas en el cuadro LXXXIV ~~acusan~~ en los fenotipos Kell + - (KKp^b/KKp^b), Penney + (kKp^a/kKp^b). La razón de ello estriba en la baja frecuencia génica de K (0,389888), en el Kell +, y en la ostensible elevación de la incidencia de Kp^a con valores del 4,88 % y frecuencia génica de 0,025000, para el Penney +; ésta alta presencia de Kp^a justifica las alteraciones de aquellos genotipos que contienen Kp^a. Pero todo ésto no menoscaba el interés de nuestro trabajo, pues nos reiteramos en el equilibrio genético de la población examinada por nosotros.

CAPITULO VIII

SISTEMA SANGUINEO DUFFY

Descripción del sistema.- Nomenclatura, antígenos y anticuerpos.- Genética.- Sistema Duffy y las enfermedades.- Su distribución geográfica.- Material y métodos de Laboratorio.- Nuestra casuística. Comentario final.

Descripción del sistema.

A principios del año 1.950, CUTBUSH, MOLLISON y PARKIN, haciendo unas investigaciones en el suero de un paciente hemofílico y politransfundido a lo largo de los últimos veinte años, encontraron un anticuerpo irregular no identificable con ninguno de los conocidos hasta entonces y que se manifestaba mediante la prueba de Coombs indirecta. Posteriormente los propios CUTBUSH y MOLLISON confirmaron la existencia del antígeno correspondiente en el 64,90 % de las 205 muestras de sangre analizadas, en personas sin parentesco biológico, así como su independencia genética en relación con los sistemas sanguíneos ABO y Rh.

Esta circunstancia permitió definir un nuevo factor sanguíneo que tomó el nombre de DUFFY, apellido del hemofílico en que primero se denunció.

Ese mismo año Van LOGHEM y Van der HERT descubrieron un anticuerpo, también en el suero de otro hemofílico, de apellido Pluy, al que llamaron anti-Pluym; sin embargo, poco después se comprobó que este anticuerpo era el mismo que CUTBUSH y cols. habían descrito.

Más tarde y a raíz fundamentalmente de accidentes posttransfusionales, se notificaron nuevos hallazgos del anticuerpo anti-Duffy (anti-Fy^a) por IKIN (1.950), ROSENFELD (1.950), JAMES y PLAUT (1.951), HUTCHESON (1.952), HALLE (1.955), GRUNDORFER (1.962), etc. etc.; en todos los casos siempre se trató de un anticuerpo de naturaleza Ig.G que se evidenciaba con ayuda de la antiglobulina de Coombs. Asimismo éste anticuerpo anti-Fy^a es capaz de provocar clínica de enfermedad hemolítica perinatal, tal y como lo refieren BAKER y cols (1.956), GREENWALT y cols (1.959) y GECZY (1.960).

En el año 1.951 IKIN y cols. descubren, en el suero de una mujer berlinesa con isoinmunización, un anticuerpo que era antagonista del Fy^a y que llamaron anti-Fy^b, siendo BLUMENTHAL y PETTENKOFFER (1.951) los que le describieron minuciosamente y con lo cual se organizaba un nuevo sistema sanguíneo integrado por dos antígenos (Fy^a y Fy^b). ALLEN demostraría la posibilidad de accidentes postransfusionales como consecuencia del antigenismo de este sistema sanguíneo.

Posteriormente nuevos antígenos se han ido integrando en éste sistema y de cuya relación damos cuenta en el apartado siguiente.

Nomenclatura, antígenos y anticuerpos.

Los antígenos del sistema Duffy, junto con los de los sistemas Rh, Kell y Kidd, se localizan principalmente en la profundidad de la membrana de los eritrocitos y ya están formados completamente en el momento del parto; es más, RACE y SANGER, en 1.958, y SPEIRES en 1.959, pusieron de manifiesto el antígeno Fy^a en fetos de pocas semanas de vida (a las 17 semanas). Según los citados RACE y SANGER (1.952-53) la edad del individuo es un factor influenciado en la cantidad de antígeno Fy^a detectable.

Los dos antígenos, Fy^a y Fy^b , están casi siempre presentes en la raza blanca; el Fy^a aparece aproximadamente en el 65 % de las personas y el Fy^b en cerca del 83 %, no habiéndose observado, hasta el presente, la ausencia de ambos factores en la citada raza, aunque excepcionalmente parece que puede suceder. Sin embargo, RACE y JACK, en 1.955, encontraron que un 68 % de los individuos de raza negra no presentaban ni el antígeno Fy^a ni Fy^b , es decir, que eran de fenotipo $Fy(a-b-)$ y a esta negatividad se le denominó simplemente Fy ; en el supuesto de que se lograra aislar un anticuerpo que reaccionara con Fy , se ha propuesto llamarle anti- Fy^c .

Los anticuerpos anti- Fy^a y anti- Fy^b son siempre inmunes, generalmente calientes, incompletos y fijan complemento, siendo necesario para ponerlos de manifiesto la prueba de Coombs indirecta, no pudiendo emplearse para su detección las enzimas proteolíticas (papaína y bromelina) toda vez que los receptores antigénicos se suelen inactivar con estos fermentos.

Excepcionalmente se han citado anticuerpos anti-Duffy - completos.

Como ya hemos señalado estos anticuerpos se han descrito en la enfermedad hemolítica perinatal y en accidentes postransfusionales, siendo casi siempre de especificidad anti- Fy^a y muy rara vez anti- Fy^b , explicable ello por la mayor antigenicidad de Fy^a . En politransfundidos el anticuerpo anti- Fy^a se ha encontrado con una frecuencia del 0,5 % al 0,02 % y el anti- Fy^b de 0,02 % al 0,01%.

En el año 1.971, ALBREY y cols., detectaron en el suero de un caucasiano de fenotipo $Fy(a-b-)$ un nuevo anticuerpo al que denominaron anti- Fy^3 ; este anticuerpo aglutina todos los hematies del sistema, excepto los de fenotipo $Fy(a-b-)$; el antígeno Fy^3 correspondiente pudiera ser, hipotéticamente, el estadio previo, ésto es, la sustancia precursora de los antígenos Fy^a y Fy^b .

BEHZARD, en 1.973, refirió la existencia de otro anticuerpo encuadrable en éste sistema y que llamó anti-Fy⁴; la revelación se produjo en un negro de fenotipo Fy (a+b+) y el mencionado anti-Fy⁴ aglutina todos los hematies Fy (a- b-) de sujetos negros así como de ciertos hematies Fy (a+b-) o Fy (a- b+) de individuos de raza negra y más rara vez de caucasianos. Por supuesto no aglutina ningún hematie de fenotipo Fy (a+b+). Es posible que el antígeno Fy⁴ sea el producto de un gen Fy considerado como "silencioso".

Por último KATHARINE ha dado cuenta, en 1.973, de la existencia de anticuerpo anti-Fy⁵ producido por un negro de fenotipo Fy (a- b-); dicho anticuerpo aglutina todos los hematies, salvo los de sujetos negros de fenotipo Fy (a- b-), incluso los hematies Fy (a- b-) de caucasianos. Sin embargo, llama poderosamente la atención que el referido anticuerpo anti-Fy⁵ no aglutina los hematies Rh nulo cualquiera que sea su fenotipo Duffy, eventualidad ésta que hace suponer ciertas relaciones funcionales entre los genes Duffy y Rhesus.

Recientemente, gracias a técnicas de absorción e inhibición, se ha demostrado la presencia de los antígenos Fy^a y Fy^b también en los trombocitos.

Consecuentemente en la actualidad se admite que el sistema sanguíneo Duffy está constituido por los antígenos:

Fy^a; Fy^b; Fy; Fy³; Fy⁴; Fy⁵.

Genética. -

Los genes productores de los antígenos Duffy se han podido localizar, recientemente, en el autosoma número 1 (DONAHUE y cols. en 1.968).

Desde la aparición de los individuos con ausencia de los antígenos Fy^a y Fy^b , esto es, de fenotipo Fy (a- b-), la teoría de la transmisión de antígenos Duffy por medio de dos genes alelomorfos y codominantes en el locus Duffy, dejó de ser válida y RACE y SANGER (1.968) empezaron a sospechar en la posibilidad de la existencia de un tercer gen, Fy , alelomorfo y en estado latente o recesivo, en el mismo locus. De esta forma los genes Fy^a y Fy^b serían codominantes, reguladores^{dores} de los antígenos correspondientes y el gen Fy , considerado como recesivo respecto de los dos antígenos, es "inerte" porque no condiciona la síntesis de ninguna sustancia.

WIENER, en el Congreso de la Sociedad Internacional de Hematología celebrado en Cambridge, en el año 1950, propuso denominar al gen responsable de la producción del antígeno Fy^a por la letra "F", en tanto que al gen sintetizador de antígeno Fy^b lo llamó "f"; entonces con estos dos antígenos resultarían las combinaciones siguientes:

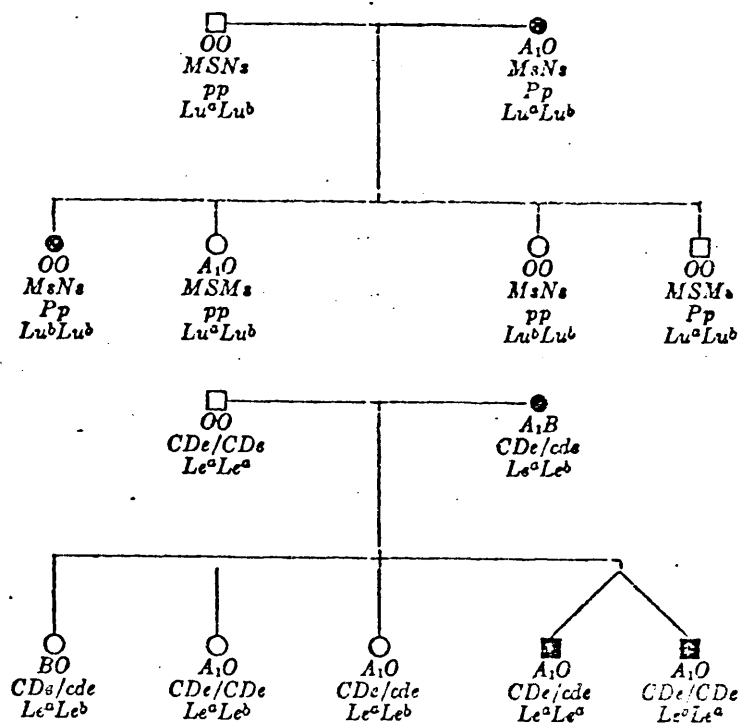
<u>Fenotipo:</u>	<u>Genotipo:</u>
Fy^a	F F
$Fy^a Fy^b$	F f
Fy^b	f f

Cuadro LXXXV

o lo que es lo mismo, cualquiera de esos dos genes se transmitirán con la herencia y se manifestarán en el fenotipo cuando estén presentes en sencilla o doble dosis en el genotipo.

RACE y cols (1.953) y CHOWN y cols señalaron que empleando ciertos anti-Fy^a (por ejemplo, Pri) existe para el antígeno Fy^a un "efecto de dosis", de modo que los hematies homocigotos Fy^aFy^a reaccionan con anti-Fy^a (Pri) en forma más enérgica que los de tipo heterocigoto Fy^aFy^b, es decir, que tienen en sus hematies una cantidad de antígeno Fy^a mayor que en los heterocigotos.

El propio RACE, en colaboración con HOLT y THOMPSON (1.950), en muestras tomadas al azar no hallaron asociaciones serológicas entre los genes del sistema Duffy y de los sistemas ABO, Rh, MNSs, Lutheran, Kell y Lewis, confirmando así parte de lo ya expuesto por CUTBUSH y MOLLISON; ésta segregación independiente de los genes del sistema Duffy y de otros grupos sanguíneos, queda demostrada en la siguiente figura XXI referida al estudio de dos familias inglesas realizado por RACE, HOLT y THOMPSON:



Dos familias que ilustran la segregación independiente de los genes Duffy y de otros grupos sanguíneos.

Negro = fenotipo Fy (a+), genotipo Fy^aFy^b
 Blanco = fenotipo Fy (a-), genotipo Fy^bFy^b

(Tomado de Race, Holt y Thompson*)

FIGURA XXI

No obstante, tres años después, el mismo RACE (1.953) observó una mayor incidencia de Fy^a en sujetos Rh negativos y de deficiencia de Fy^a en los Rh positivos, apreciación que fué ratificada por MOHR (1.954).

Las primeras frecuencias génicas y genotípicas que aportaron CUTBUHS y MOLLISON (1.950), trabajando únicamente con antisuero anti-Fy^a y partiendo de la teoría, errónea como sabemos hoy día, de que la falta de aglutinación de una sangre frente a este anticuerpo representa el fenotipo Fy^bFy^b, fueron las que se citan:

frecuencia del gen Fy ^b :	$\sqrt{0,3478}$	= 0,5839
frecuencia del gen Fy ^a :	1 - 0,5839	= 0,4102
frecuencia del genotipo Fy ^a Fy ^a :	$(0,4102)^2$	= 0,1683
frecuencia del genotipo Fy ^a Fy ^b :	$0,4102 \times 0,5898 \times 2$	= 0,4839
frecuencia del genotipo Fy ^b Fy ^b :	$(0,5898)^2$	= 0,3478

Cuadro LXXXVI

Llama la atención en estos cálculos estadísticos la exactitud de trabajo de los investigadores mencionados, ya que los datos obtenidos difieren muy poco de los que ulteriormente se han notificado, con ayuda de dos antisueños de mayor calidad, corrección matemática más precisa, incluso de un nuevo gen, Fy, a considerar. En efecto, las investigaciones genéticas en EE. UU. ofrecen el resultado siguiente:

frecuencia del gen Fy ^a	=	0,4130
frecuencia del gen Fy ^b	=	0,5870
frecuencia del genotipo Fy ^a Fy ^a	=	0,1705
frecuencia del genotipo Fy ^a Fy ^b	=	0,4848
frecuencia del genotipo Fy ^b Fy ^b	=	0,3445

Cuadro LXXXVII

Las observaciones británicas admiten:

frecuencia del gen Fy^a	= 0,4208
frecuencia del gen Fy^b	= 0,5492
frecuencia del gen Fy	= 0,0300 (estimación)
frecuencia del genotipo $Fy^a Fy^a$	= 0,1771
frecuencia del genotipo $Fy^a Fy$	= 0,0252
frecuencia del genotipo $Fy^a Fy^b$	= 0,4622
frecuencia del genotipo $Fy^b Fy^b$	= 0,3016
frecuencia del genotipo $Fy^b Fy$	= 0,0330
frecuencia del genotipo $Fy Fy$	= 0,0009

Cuadro LXXXVIII

Los estudios realizados en Nueva York en una población de 179 negros arrojan los datos:

frecuencia del gen Fy^a	= 0,1220
frecuencia del gen Fy^b	= 0,0534
frecuencia del gen Fy	= 0,8246

Cuadro LXXXIX

Apreciamos, por tanto, que el número de fenotipos y genotipos posibles, en el caso de aceptar solamente los genes Fy^a , Fy^b y Fy , serían respectivamente cuatro y seis, esto es:

<u>Fenotipos:</u>	<u>Genotipos:</u>
$Fy (a+b-)$	$\left\{ \begin{array}{l} Fy^a Fy^a \\ Fy^a Fy \end{array} \right.$
$Fy (a- b+)$	$\left\{ \begin{array}{l} Fy^b Fy^b \\ Fy^b Fy \end{array} \right.$
$Fy (a+ b+)$	$Fy^a Fy^b$
$Fy (a- b-)$	$Fy Fy$

Cuadro XC

Pero si empleamos los cinco anticuerpos anti-(-Fy^a, -Fy^b, -Fy⁴, -Fy⁵ y -Fy⁶) hasta el momento descritos, el número de fenotipos se elevaría a cinco y el de genotipos a ocho, lo cual queda reflejado en el cuadro que sigue:

Fenotipos	Genotipos	Anti-Fy ^a	Anti-Fy ^b	Anti-Fy ³	Anti-Fy ⁴	Anti-Fy ⁵
Fy(a+b-)	Fy ^a Fy ^a ó Fy ^a Fy	+	-	+	-	+
Fy(a+b-)	Fy ^a Fy ⁴	+	-	+	-	+
Fy(a-b+)	Fy ^b Fy ^b ó Fy ^b Fy	-	+	+	-	+
Fy(a-b+)	Fy ^b Fy ⁴	-	+	+	+	+
Fy(a+b+)	Fy ^a Fy ^b	+	+	+	-	+
Fy(a-b ⁺)	Fy ^x Fy ^x	-	+	+	?	?
Fy(a-b-)	FyFy	-	-	-	?	+
Fy(a-b-)	Fy ⁴ Fy ⁴ ó Fy ⁴ Fy	-	-	-	+	-

Cuadro XCI

De todo lo anteriormente expuesto, se deduce que manejando los genes Fy^a y Fy^b son posibles tres genotipos distintos (Fy^aFy^a; Fy^aFy^b y Fy^bFy^b); la combinación de estos genotipos en una unión matrimonial dá lugar a seis cruzamientos cromosómicos diferentes posibles (ver "nuestra casuística" en este mismo capítulo).

Si consideramos los genes Fy^a, Fy^b y Fy como integrantes del genotipo de las parejas progenitoras, los genotipos resultantes en la descendencia vendrían dados en razón de los veintún cruzamientos teóricos posibles entre los padres; estos cruzamientos serían:

Fy ^a Fy ^a x Fy ^a Fy ^a	Fy ^a Fy ^b x Fy ^a Fy ^b	Fy ^b Fy ^b x Fy ^b Fy ^b
Fy ^a Fy ^a x Fy ^a Fy ^b	Fy ^a Fy ^b x Fy ^a Fy	Fy ^b Fy ^b x Fy ^b Fy
Fy ^a Fy ^a x Fy ^a Fy	Fy ^a Fy ^b x Fy ^b Fy ^b	Fy ^b Fy ^b x Fy Fy
Fy ^a Fy ^a x Fy ^b Fy ^b	Fy ^a Fy ^b x Fy ^b Fy	Fy ^b Fy x Fy ^b Fy
Fy ^a Fy ^a x Fy ^b Fy	Fy ^a Fy ^b x Fy Fy	Fy ^b Fy x Fy Fy
Fy ^a Fy ^a x Fy Fy		Fy Fy x Fy Fy
	Fy ^a Fy x Fy ^a Fy	
	Fy ^a Fy x Fy ^b Fy ^b	
	Fy ^a Fy x Fy ^b Fy	
	Fy ^a Fy x Fy Fy	

Cuadro XCII

Pero si valoramos además los nuevos genes recientemente descubiertos, de este sistema (Fy³, Fy⁴ y Fy⁵) el genotipo en los hijos dependería de un número muy superior de cruzamientos cromosómicos posibles entre las parejas progenitoras. En efecto,

siendo $n = 21$

$$n + (n-1) + (n-2) + (n-3) + (n-4) + (n-5) \dots \dots \dots + (n-20)$$

$$S = \frac{n(n+1)}{2} = \frac{21(21+1)}{2} = 231$$

es decir, el sistema Duffy en la actualidad, conceptuando los genes que lo configuran, ofrece en teoría la variabilidad de 231 cruzamientos posibles.

El sistema Duffy y las enfermedades. - Su distribución geográfica.

RENWICH y LAWLER (1.963) demostraron un linkage entre el locus Duffy y el de una forma de catarata congénita, llamada "catarata zonular".

KOMARYT, ADEMECK y URBA (1.971) han sugerido un posi

ble linkage entre el locus Amy_2 (que controla la isoamilasa pancreática) y la region extrema del autosoma número 1.

Por supuesto que la distribución de los genes varía de unas zonas de la tierra a otras, al igual que sucede con los genes de otros grupos sanguíneos; he aquí algunos ejemplos de frecuencias génicas.

<u>Europa</u>	<u>gen Fy^a</u>	<u>gen Fy^b</u>
Ingleses (Londres)	0, 4358	0, 5642
Italianos (Florenzia)	0, 4370	0, 5630
Austriacos	0, 3843	0, 6157
Suizos	0, 4168	0, 5832
Vascos (España)	0, 2510	0, 7489
Canarios	0, 2929	0, 7071
Madrileños	0, 4000	0, 6000
Lapones (Noruega)	0, 8189	0, 1811
<u>Asia:</u>		
Chinos	0, 9015	0, 0985
Coreanos	0, 9950	0, 0050
Japoneses	0, 9196	0, 0804
Indios	0, 7304	0, 2696
Pakistaníes	0, 7647	0, 2353
<u>Oceanía:</u>		
Polinesios (Islas Cook)	0, 9200	0, 0800
Australianos (aborígenes)	1, 0000	0, 0000

	<u>gen Fy^a</u>	<u>gen Fy^b</u>
<u>Africa:</u>		
Bereberes (Marruecos)	0,2578	0,7422
Liberianos (negros)	0,000	1,0000
<u>América:</u>		
Mejicanos	0,5528	0,4472
Indios Maya (Méjico)	0,6762	0,3228
Indios Chorotega (Nicaragua)	0,9610	0,0389
Indios Tacana (Bolivia)	1,0000	0,0000
Chilenos (Santiago)	0,7030	0,2970

Por lo tanto, en Europa se aprecia un ligero predominio del gen Fy^b, con las excepciones notables de los lapones noruegos en los cuales hay una fuerte incidencia del gen Fy^a (0,8189) y de los canarios y vascos (españoles), en los que el desequilibrio a favor del gen Fy^b es muy acentuado.

En Asia, la mayor frecuencia corresponde al gen Fy^a, con clara tendencia a la casi anulación del gen Fy^b, eventualidad que se acusa más en coreanos (Fy^a: 0,9950).

En Polinesia y Australia las estadísticas génicas son similares a las descritas en Asia, llegando incluso la totalidad de las muestras demográficas recogidas en aborígenes australianos (Papúes y pigmeos) a revelar solamente el gen Fy^a.

En Africa vuelve a notarse un mayor porcentaje del gen Fy^b, y así en negros de Liberia hay ausencia completa del gen Fy^a.

En América, en poblaciones indígenas, el gen Fy^a supera descaradamente al gen Fy^b ; es más, en los indios Tacana de Bolivia, al igual que en los australianos, el gen Fy^b es el único que se detecta.

En suma, podría decirse que el gen Fy^b es más propio en africanos y europeos; el gen Fy^a sería atributo genético de razas asiáticas, islas de Oceanía y americanas. De una forma gráfica puede colegirse que el gen Fy^b predomina en Occidente, con nacimiento arrollador en el hemisferio sur y debilitándose a medida que alcanza el hemisferio septentrional y cuando se extiende hacia el Este abandona su situación de privilegio en beneficio del gen Fy^a , circunstancia que tiene lugar de manera total en los países de Extremo Oriente. Ya WALTER (1.962) formulaba la hipótesis de que la mutación genética del gen Fy^a se habría originado en dos centros; al Este de Asia y en Australia; de estos lugares el gen Fy^a se difundió por Europa y América; en cambio la mutación hipotética del gen Fy^b se podría situar en Europa y Asia Occidental.

Por último, la elevada incidencia del gen Fy en la población negra, llevó a BOYD a considerar este gen como "gen africano".

Material y métodos de Laboratorio. -

La primera condición que requiere la determinación de los antígenos Duffy es el empleo de hematies frescos. Realmente para todas las pruebas que describimos en esta tesis, usamos muestras de sangre de hemodonadores o enfermos extraídas el mismo día de la prueba.

Según WIENER y GORDON el número de receptores antigénicos Duffy en el eritrocito sería aproximadamente diez veces menor que el de receptores antigénicos Rh y por esta razón las reacciones antígeno-anticuerpo son débiles, siendo obligada una lectura

de resultados muy cuidadosa.

De los métodos enzimáticos (bromelina, papaína, etc.) no pudimos servirnos ya que, como se apunta en su lugar oportuno, los receptores antigénicos Duffy son destruídos por las enzimas proteolíticas.

Todas las muestras fueron analizadas con antisueros humanos anti-Fy^a y anti-Fy^b; estos anticuerpos son de naturaleza "bloqueante o incompletos", es decir, se unen al antígeno sin ocasionar su aglutinación, siendo necesario para evidenciar la existencia o ausencia de los antígenos correspondientes la prueba de Coombs indirecta, técnica que demanda el lavado previo de los hematies a estudiar a fin de eliminar todo material proteico del plasma capaz de enmascarar aglutinaciones u ocasionar pseudo-aglutinaciones; asimismo, dado que estos antígenos se eluyen fácilmente, el lavado de los hematies exige que sea muy rápido al efectuar la prueba de Coombs indirecta.

Por todo ello el procedimiento que empleamos fué el que sigue:

- 1) Preparamos una suspensión al 2 % de hematies lavados una vez en solución fisiológica salina al 0,9 %.
- 2) Pusimos dos gotas de esta suspensión en un tubo de hemolisis seco y limpio y añadimos dos gotas de suero anti-Fy^a; para la determinación del antígeno Fy^b añadimos dos gotas de suero anti-Fy^b.
- 3) Se mezcló por agitación e incubamos en baño con agua a 37° C. durante 30 minutos.
- 4) Pasado este tiempo se lavó la mezcla con solución fisiológica salina al 0,9 % y mediante centrifugación tres o cuatro veces.
- 5) Una vez retirada la solución fisiológica salina sobrena-

dante en el último lavado, al sedimento celular del fondo del tubo se le agregaron dos gotas de suero antiglobulina de Coombs.

6) Se agitó para homogeneizar la mezcla anterior y se dejó reposar dos minutos.

7) Seguidamente se centrifugaron los tubos en serofuga, modelo Clay-Adams, a 3.000 r.p.m. durante un minuto.

8) Mediante agitación suave se examinaron macroscópicamente la ausencia o presencia de aglutinación.

9) Se anotaron los resultados.

El suero anti-Fy^b empleado nos fué suministrado en viales liofilizados, por lo cual le reconstituimos con un ml. de agua destilada por vial.

Todos los lotes de antisueros fueron previamente comprobados con hematies testigo.

Nuestra casuística.

Realizamos el estudio del sistema Duffy en 1.988 donantes de sangre de nuestro Servicio del Hospital Clínico de San Carlos, todos de nacionalidad española, procedentes de diversas regiones geográficas, de ambos sexos, diferentes edades y sin lazos biológicos entre sí.

El trabajo está referido a los antígenos Fy^a y Fy^b y por estimación matemática calculamos los posibles genotipos que incluyen el gen Fy.

Sirviéndonos de los sueros correspondientes, encontramos las siguientes reacciones positivas:

anti-Fy^a aglutinó a 1.240 muestras.

anti-Fy^b aglutinó a 1.657 muestras.

Por consiguiente la frecuencia de presentación de los antígenos fué:

antígeno Fy ^a	62,6760 %
antígeno Fy ^b	83,3501 %
antígeno Fy	00,0000 %

Las frecuencias de genotipos fueron:

GENOTIPOS	FRECUENCIAS OBSERVADAS	
	Valor absoluto	Valor decimal
Fy ^a Fy ^a	331	0,166498
Fy ^a Fy ^b	915	0,460261
Fy ^b Fy ^b	742	0,373239
Total	1.988	0,999998

Cuadro XCIII

Las frecuencias génicas se calcularon con la fórmula de WIENER y VAISBERG:

$$= \text{gen Fy}^a = \frac{\text{Fy}^a \text{ Fy}^a}{N} + \frac{1/2 \times \text{Fy}^a \text{ Fy}^b}{N} = \frac{331}{N} + \frac{1/2 \times 915}{N} = 0,396629$$

$$= \text{gen Fy}^b = \frac{\text{Fy}^b \text{ Fy}^b}{N} + \frac{1/2 \times \text{Fy}^a \text{ Fy}^b}{N} = \frac{742}{N} + \frac{1/2 \times 915}{N} = 0,603370$$

$$p + q = 0,396629 + 0,603370 = 0,999999$$

Frecuencia del gen Fy ^a	0,396629
Frecuencia del gen Fy ^b	0,603370

Cuadro XCIV

Seguidamente, a partir de estas frecuencias génicas, de
dujimos las frecuencias calculadas de los genotipos del sistema
 en estudio, valiéndonos para ello de las fórmulas que a continua
ción exponemos:

FRECUENCIAS CALCULADAS

Valor decimal:

$$\text{Frecuencia del genotipo } Fy^aFy^a = (0,396629)^2 = 0,157314$$

$$\text{Frecuencia del genotipo } Fy^aFy^b = 0,396629 \times 0,603370 \times 2 = 0,478628$$

$$\text{Frecuencia del genotipo } Fy^bFy^b = (0,603370)^2 = 0,364055$$

Valor absoluto:

$$\text{Frecuencia del genotipo } Fy^aFy^a = 1.988 \times 0,157314 = 312,740$$

$$\text{Frecuencia del genotipo } Fy^aFy^b = 1.988 \times 0,478628 = 951,512$$

$$\text{Frecuencia del genotipo } Fy^bFy^b = 1.988 \times 0,364055 = 723,741$$

Cuadro XCV

Partiendo de estos datos en la población investigada, pode-
mos establecer los diferentes cruzamientos posibles a expensas de
 las frecuencias teóricas de dichos cruzamientos de genotipos:

<u>Cruzamientos posibles</u>	<u>Frecuencias teóricas de genotipos</u>
$Fy^aFy^a \times Fy^aFy^a \dots (Fy^a)^4$	$= (0,396629)^4$
$Fy^aFy^a \times Fy^aFy^b \dots 4 (Fy^a)^3 Fy^b$	$= 4 \times (0,396629)^3 \times (0,603370)$
$Fy^aFy^a \times Fy^bFy^b \dots 2 (Fy^a)^2 (Fy^b)^2$	$= 2 \times (0,396629)^2 \times (0,603370)^2$
$Fy^aFy^b \times Fy^aFy^b \dots 4 (Fy^a)^2 (Fy^b)^2$	$= 4 \times (0,396629)^2 \times (0,603370)^2$
$Fy^aFy^b \times Fy^bFy^b \dots 4 (Fy^a) (Fy^b)^3$	$= 4 \times (0,396629) \times (0,603370)^3$
$Fy^bFy^b \times Fy^bFy^b \dots (Fy^b)^4$	$= (0,603370)^4$

Cuadro XCVI

Por consiguiente, según nuestras estadísticas, las frecuen-

cias calculadas para los distintos cruzamientos serán:

<u>Cruzamientos posibles</u>	<u>Frecuencias calculadas</u>
Fy ^a Fy ^a x Fy ^a Fy ^a	0,0247476
Fy ^a Fy ^a x Fy ^a Fy ^b	0,1505892
Fy ^a Fy ^a x Fy ^b Fy ^b	0,1145418
Fy ^a Fy ^b x Fy ^a Fy ^b	0,2290836
Fy ^a Fy ^b x Fy ^b Fy ^b	0,3484929
Fy ^b Fy ^b x Fy ^b Fy ^b	0,1325360

Cuadro XCVII

Pero también se puede establecer una distribución de frecuencias de genotipos calculados o esperados en padres e hijos, con los resultados que en Cuadro CII se revelan.

En el apartado referido a la genética, de este mismo capítulo, comentábamos que la ausencia de los antígenos Fy^a y Fy^b, es decir, la posible existencia de Fy en la raza blanca es francamente rara; no obstante RACE y SANGER, estimaban en los ingleses una frecuencia del 3 % para el gen Fy. Tomando este ejemplo, nosotros también determinamos las frecuencias de genotipos donde fuera posible encontrar el gen Fy, pero el valor que hemos estimado para el mismo es de 0,02, esto es, una frecuencia del 2 %, que creemos se ajusta más al equilibrio genético.

De este modo y aplicando la propia fórmula de RACE y SANGER, obtuvimos los valores que reflejamos:

siendo Fy= 0,02 (estimado)

0,37239 = valor decimal de las frecuencias observadas en las muestras Fy^a negativas, por nosotros analizadas.

$$Fy^b = \frac{- 2 Fy + \sqrt{(2 Fy)^2 + (4 \times 0,373239)}}{2} =$$

$$= \frac{- 0,04 + \sqrt{0,0016 + 1,492956}}{2} = 0,59126.$$

$$Fy^a = 1 - (Fy + Fy^b) = 1 - (0,02 + 0,59126) = 0,38874.$$

y por tanto:

frecuencia del gen Fy^a	0,38874
frecuencia del gen Fy^b	0,59126
frecuencia del gen Fy	0,02 (estimado)

Cuadro XCVIII

A partir de estas frecuencias génicas se han calculado las frecuencias de los seis genotipos posibles y de los tres fenotipos teóricos, cuyos resultados son:

FRECUENCIAS CALCULADAS

<u>GENOTIPOS</u>	<u>FRECUENCIAS</u>		<u>FENOTIPOS</u>	<u>FRECUENCIAS</u>
	V. decimal	V. absoluto		
$Fy^a Fy^a$	0,151118	300,422	} $Fy^a Fy^a$	331,333
$Fy^a Fy$	0,015549	30,911		
$Fy^a Fy^b$	0,459692	913,867	$Fy^a Fy^b$	913,867
$Fy^b Fy^b$	0,349588	694,980	} $Fy^b Fy^b$	741,996
$Fy^b Fy$	0,023650	47,016		
$Fy Fy$	0,000400	00,000	$Fy Fy$	0,7952

Cuadro KCIX

Comparando las frecuencias calculadas con las observadas, no hay diferencia alguna ($p > 0,95$), con un $\chi^2 = 0,001895$, para un grado de libertad y por tanto existe un equilibrio genético.

En el cuadro CIII desarrollamos las frecuencias decimales calculadas de los 21 genotipos resultantes en la descendencia de los cruzamientos que ya exponíamos en el cuadro XCII.

Por último, exponemos nuestra casuística comparada con las obtenidas por otros autores en España y fuera de nuestro contorno geográfico:

AUTORES	POBLACION	Nº CASOS	FRECUENCIAS GENICAS	
			Fy ^a	Fy ^b
Elósegui y Hors (1951)	Madrileños	97	0,40000	0,60000
Moya (1.970)	Vascos	116	0,25101	0,74899
Ros (1.972)	Barcelona	483	0,36542	0,63457
Colino y colbs. (Estimación de Fy)	Varias	1.988	0,38874	0,59126
Colino y colbs. (1.975)	Varias	1.988	0,396629	0,603370
Roberts (1.966)	Canarios	182	0,29290	0,70710

Cuadro C

AUTORES	POBLACION	Nº CASOS	FRECUENCIAS GENICAS	
			Fy ^a	Fy ^b
JOHNSON (1.968)	Bereberes (marroquies)	115	0,25780	0,74220
RACE (1.951)	Ingleses	225	0,41250	0,58750
RACE (1.965)	Ingleses	983	0,43580	0,56420
BARTOLS(1963)	Florentinos	300	0,43700	0,56300
HOLLANDER (1951)	Suizos	417	0,41680	0,58350

Cuadro CI

Es de destacar la baja frecuencia génica de Fy^a en el país vasco, canarias y bereberes marroquies, lo que parece apuntar un carácter genético diferencial de estos pueblos, como consecuencia de su endogamia genética.

PAREJAS		FRECUENCIAS CALCULADAS		H I J O S		FRECUENCIAS CALCULADAS	
Cruzamientos		FRECUENCIAS TEORICAS		FRECUENCIAS TEORICAS		FRECUENCIAS CALCULADAS	
		$Fy^a Fy^a$	$Fy^a Fy^b$	$Fy^b Fy^b$	$Fy^a Fy^a$	$Fy^a Fy^b$	$Fy^b Fy^b$
$Fy^a Fy^a \times Fy^a Fy^a$	0,0247476	$(Fy^a)^4$	---	---	0,0247476	---	---
$Fy^a Fy^a \times Fy^a Fy^b$	0,1565892	$2(Fy^a)^3 Fy^b$	---	---	0,0752946	0,0752946	---
$Fy^a Fy^a \times Fy^b Fy^b$	0,1145418	$2(Fy^a)^2 (Fy^b)^2$	---	---	---	0,1145418	---
$Fy^a Fy^b \times Fy^a Fy^b$	0,2290836	$(Fy^a)^2 (Fy^b)^2$	$2(Fy^a)^2 (Fy^b)^2$	$(Fy^b)^2 (Fy^a)^2$	0,0572709	0,1145418	0,0572709
$Fy^a Fy^b \times Fy^b Fy^b$	0,3484929	---	$2(Fy^b)^3$	$2(Fy^b)(Fy^a)^3$	---	0,1742464	0,1742464
$Fy^b Fy^b \times Fy^b Fy^b$	0,1325360	---	---	$(Fy^b)^4$	---	---	0,1325360
Total		0,9999911			0,1573131	0,4786246	0,3640533

Relación de frecuencias teóricas y calculadas para la descendencia, según resultados de nuestro trabajo

Cuadro CII

G E N O T I P O S		(A = P _y ^a ; B = P _y ^b ; C = P _y)					
PAREJAS	FRECUENCIAS CALCULADAS	H I J O S					
		P _y ^a P _y ^a	P _y ^a P _y ^b	P _y ^b P _y ^b	P _y ^b P _y ^a	P _y ^a P _y	P _y ^b P _y
AA x AA	0,0227701	--	--	--	--	--	--
AA x BC	0,0071480	0,0035740	0,0833740	--	--	--	--
AA x AB	0,1389360	--	0,0694680	--	--	--	--
AA x AC	0,0046996	0,0023498	--	--	--	--	--
AA x BB	0,1056586	--	0,1056586	--	--	--	--
AA x CC	0,0001208	0,0001208	--	--	--	--	--
AB x AB	0,2113172	--	0,1056586	0,0528293	--	--	--
AB x AC	0,0145616	0,0036404	0,0036404	--	0,0036404	--	--
AB x BB	0,3214064	--	0,1607032	0,1607032	--	--	--
AB x BC	0,0214764	0,0053691	0,0053691	0,0053691	0,0053691	0,0053691	0,0053691
AB x CC	0,0003677	0,0001838	--	--	0,0001838	--	--
BB x BB	0,1222769	--	--	0,1222769	--	--	--
BB x BG	0,0165356	--	--	0,0082678	0,0082678	0,0082678	0,0082678
BB x CC	0,0002769	--	--	--	0,0002769	--	--
BC x BC	0,0005593	--	--	0,0001398	0,0002769	0,0002769	0,0001398
BC x CC	0,000088	--	--	--	0,0000094	0,0000094	0,0000094
CC x CC	0,000001	--	--	--	--	--	0,0000001
AC x AC	0,0002417	0,0001208	--	--	--	--	0,0000604
AC x BB	0,0108716	--	0,0054358	--	--	0,0054358	--
AC x BC	0,0007364	0,0001841	0,0001841	--	0,0001841	0,0001841	0,0001841
AC x CC	0,0000124	0,0000042	--	--	--	--	0,0000062
Total	0,9999950	0,151118	0,415490	0,4396918	0,4395861	0,0236490	0,0004900

Distribución de frecuencias calculadas en los genotipos Puffy para la descendencia, según resultado de nuestro trabajo. Cuadro CIII

Comentario final.

Varias son las razones que nos impulsaron a investigar los antígenos del sistema Duffy.

Por supuesto, el primer interés que nos obligaba era un mayor acercamiento al mosaico genético de los hemodonadores, en virtud de los múltiples casos que se han descrito de inmunización postransfusional e incompatibilidades feto-materna por los antígenos Fy^a , primordialmente, y Fy^b , circunstancias éstas que ya han quedado descritas en el apartado "nomenclatura, antígenos y anticuerpos", de este mismo capítulo. Nosotros actualmente tenemos aislados tres anticuerpos anti- Fy^a (uno en donante de sangre y dos en enfermos del Hospital) y un anticuerpo anti- Fy^b (en enfermo) tal como dejamos referido en el capítulo X ("anticuerpos irregulares").

De otro lado, gran número de los estudios que sobre este sistema se han verificado, adolecen de haber sido cumplimentados con sólo el antisuero anti- Fy^a , eventualidad peligrosa si consideramos que las lecturas de las reacciones antígeno-anticuerpo de este sistema sanguíneo son delicadas y desde luego menos ostensibles que las del sistema Rh, por ejemplo, cuando se hacen en tubo; de hecho tuvimos que repetir el montaje de la prueba con diversas muestras antes de decidirnos a clasificarlas; quiere ello decir que se corre el riesgo de etiquetar erróneamente los antígenos y sobre todo negar la posibilidad de definir, por observación directa, los individuos heterocigotos. A nosotros, por fortuna, se nos facilitaron las cantidades necesarias de antisueros anti- Fy^a y anti- Fy^b y con ello soslayamos estos posibles peligros, a la par que entramos en el juego de poder examinar el "efecto de dosis" e incluso la probabilidad de detectar el genotipo $Fy Fy$. Ciertamente que éste último aspecto no ha sido puesto de manifiesto en nuestro trabajo, pero lo buscamos; en cambio, pudimos ratificar el "efecto de dosis", es decir, una aglutinación más intensa en los homocigotos ($Fy^a Fy^a$) por una supuesta mayor riqueza antigénica Fy^a que en los heterocigotos.

Asimismo nos animó el deseo de conocer si la población global española estaría marcada por una de esas desviaciones génicas - presentes en determinadas zonas del territorio nacional (Vascongadas y Canarias), o si estas incidencias génicas regionales serían producto exclusivo del voluntario aislamiento étnico que, por lo general, ha impe- rado en los componentes de estas comunidades. Para despejar tal re celo decidimos llevar a efecto la prospección estadística en donantes de sangre residentes en Madrid, pero de procedencia diversa y nati- vos en España, procurando siempre no reiterar las investigaciones en los individuos de una determinada región, pero sin selección pre via. De este modo rompíamos los moldes de examen establecidos por los autores que nos han precedido (ver cuadro C).

Los datos recogidos nos indican claramente, como lo revela el estudio comparativo con las frecuencias génicas obtenidas en otros países (ver cuadro CI), que estamos inmersos en la impronta genéti- ca que domina en Europa y que por consiguiente la población española participa de lo que WALTER (1.962) llamara "mutación hipotética del gen Fy^b ".

CAPITULO IX

SISTEMA SANGUINEO MNSs

Descripción del sistema. - Nomenclatura, antígenos y anticuerpos. - Genética. - Sistema MNSs y las enfermedades. - Su distribución geográfica. - Material y métodos de Laboratorio. - Nuestra casuística. - Comentario final.

Descripción del sistema

Se trata de un sistema sanguíneo complejo, toda vez que está enmarcado en una serie de factores antigénicos los cuales en principio se creyó no tenían relación.

Hay un hecho sumamente interesante que distingue este sistema de otros sistemas de grupos sanguíneos y es que en tanto al conocimiento de estos últimos se llegó merced al descubrimiento accidental de anticuerpos hallados en sueros humanos, en aquél los anticuerpos no se aislaron sino que fueron fabricados. Es decir, cuando aún sólo ~~aún sólo~~ eran conocidos los antígenos del sistema ABO y viendo que los problemas debidos a complicaciones transfusionales seguían produciéndose, LANDSTEINER y LEVINE imaginaron la existencia de otros factores antigénicos responsables de los mismos y para evidenciarlos inyectaron diferentes sangres humanas a conejos provocándoles así una inmunización; absorbieron luego el suero inmune con nuevas muestras de eritrocitos humanos hasta que lograron poner de manifiesto, con ayuda de los anticuerpos anti-M y anti-N circulantes en el suero de los conejos, los correspondientes antígenos humanos M y N. Esta eventualidad se comunicó por primera vez en 1.927 y lo interpretaron como dos factores alelos codominantes; este comportamiento hereditario fué ratificado más tarde por los estudios intrafamiliares efectuados por SCHIFF (1.930), WIENER y VAISER (1.931), TAYLOR y PRIOR (1.939), HALDANE (1.948) y WIENER (1951). Según ésta hipótesis en cada persona puede estar presente uno o ambos

factores, dando lugar, pues, a tres genotipos: MM, MN y NN.

Veinte años después, en 1.947, WALSH y MONTGOMERY, revelaron un nuevo anticuerpo que llamaron anti-S y que en principio pensaron no guardaba relación con ninguno de los sistemas sanguíneos por aquel entonces conocidos; serían RACE y SANGER los que con el citado anti-S descubrieron el antígeno S y lo asociaron al sistema MN. En 1.951, LEVINE, WIGOD y KOCH encontraron la primera muestra de anti-s. Desde ese momento se admite que los antígenos M y N de un lado, como se ha expuesto, y S-s de otro son alelomorfos codominantes entre sí, pero no un par respecto del otro; la relación entre ambas parejas sería, según RACE y SANGER, la misma que hay entre C y c, D y d y E y e en el sistema Rh, ésto es, los genes productores de dichos antígenos ocuparán lugares estrechamente ligados, en tanto que para WIENER y WEXLER se trataría de alelomorfos múltiples.

El antígeno S se asocia con mayor frecuencia con el M que con el N y según su estancia ó ausencia en los eritrocitos proporcionará tres genotipos posibles: SS, Ss y ss.

En 1.953, WIENER, UNGER y GORDON hallaron un nuevo anticuerpo, anti-U, en el suero de una mujer negra norteamericana, la cual había fallecido de complicación transfusional, ocasionada por el referido anticuerpo. Creyeron que el correspondiente antígeno U podría integrarse en el sistema MNSs y serían GREENWALT y cols., en 1.954, tras encontrar un segundo ejemplo de anti-U en otra negra norteamericana, los que definitivamente lo incluirían en el sistema MNSs, dándose la circunstancia de que las personas con antígeno U carecen, al menos serológicamente, de antígenos S y s.

Ulteriormente se han ido sumando nuevos antígenos a este sistema; su descripción la posponemos para el apartado siguiente. Señalemos, empero, que la importancia del sistema sanguíneo MNSs y la constela-

ción de antígenos en él incluidos, no dimana de los conflictos inmunológicos a que puede dar lugar ya que estos, salvo las excepciones de los antígenos U, S y s y en raras ocasiones de otros antígenos, carecen de transcendencia clínica; el verdadero interés reside en el gran valor que tiene su estudio en aplicaciones antropológicas en el campo de la Medicina legal, pues la presencia o ausencia de uno los antígenos constituye una prueba de exclusión de la paternidad.

Nomenclatura, antígenos y anticuerpos

Comentábamos que inicialmente el sistema en estudio está compuesto por cuatro antígenos: M, N, S y s; pero lo cierto es que sobre este esqueleto se han ido encarnando nuevos antígenos, unos frecuentes y otros verdaderamente raros, a los que RACE y SANGER denominan "satélites"; sobre este aspecto insistiremos más adelante.

El desarrollo de los antígenos de este sistema es por lo general completo en el momento del nacimiento. MOUREAU halló antígenos M y N en 17 fetos de diferentes edades; el antígeno S se ha encontrado en tres fetos de 17 semanas y en uno de 12 semanas; el antígeno s lo localizó SPEISER en el cordón umbilical de un feto de 27 mm. LAWLER, MARSHALL y SHATWELL comprobaron que los eritrocitos de cordón aglutinaban más fuertemente con anti-M y anti-S que los eritrocitos de personas adultas. Los antígenos U, Mg, Vw, Mt^a, Cl^a y Nya, igualmente están desarrollados en el nacimiento.

Las sustancias MNSs de los grupos sanguíneos existen en los hematies; MARSH y cols, en el año 1.974, han demostrado también actividad antigénica en los leucocitos y plaquetas; no se eliminan en las secreciones y se destruyen, por lo general, al ser tratadas con enzimas proteolíticas (ver capítulo X).

El antígeno M se ha descrito en poblaciones humanas, sin distinción

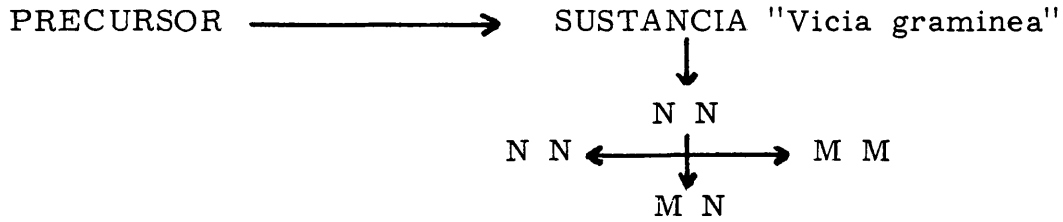
de razas, con frecuencias fluctuantes entre el 75 % y el 80 % y excepcionalmente puede ser responsable de accidentes hemolíticos transfusionales y enfermedad hemolítica perinatal (E. H. P.) aunque de escasa significación clínica; en efecto, hallazgos de anticuerpos anti-M humanos han sido citados por WOLF y JONSSON (1.933), FRIEDENREICH (1.937), MOUREAU y LAMBERT (1.939) y BROMAN (1.944).

El antígeno N también es dable en cualquier raza y su frecuencia es algo inferior, del 72 % al 73 %; su poder inmunizante reviste los mismos caracteres que el antígeno M y se han descrito algunos casos de anti-N humano: dos por CALENDER y RACE y uno por ALLET, HOLMAN, KROMME, Van der SPEK y SANGER en un sujeto MM tras dos transfusiones con sangre MM; el último anti-N aislado lo ha comunicado HEYSELL, en 1.974.

Los anticuerpos anti-M y anti-N que se emplean para la determinación de estos antígenos son habitualmente de origen animal, obtenidos por inmunización, con hematies específicos humanos, a conejos e incluso a caballo y vaca. En el hombre pueden encontrarse anti-M y anti-N en forma natural, los cuales reaccionan mejor en solución salina a temperatura inferior a los 20° C., o bien inmunes, con la rareza descrita, para cuya detección es precisa la prueba de Coombs indirecta; estos anticuerpos inmunes de origen humano son capaces de descubrir alelos variantes de M y N. En pruebas cruzadas el anti-M aparece con una frecuencia de 5 a 0,1 por mil.

Es necesario consignar la existencia de ciertos extractos de plantas, fitoaglutininas, que aglutinan específicamente a los antígenos M (*Iberis amara*) y N (*Bauhynia purpurea* y *Vicia graminea*).

La determinación de la estructura química de los antígenos M y N ha permitido demostrar que la sustancia N podía ser considerada como precursora de la sustancia M, según el esquema que exponemos:



En definitiva los anti-M y anti-N son en su mayoría aglutininas naturales y sólo excepcionalmente pueden encontrarse a causa de transfusiones incompatibles anticuerpos inmunes.

El antígeno S está presente en el 54 % de la población y suele ir asociado al antígeno M; los sujetos S negativo se consideran homocigotos para ss con la salvedad que más adelante comentaremos. El antígeno s es más frecuente, en torno al 89,5 %.

El anticuerpo anti-S es bastante común y se la ha responsabilizado de accidentes transfusionales y E. H. P. habiéndosele aislado en pruebas cruzadas con las mismas frecuencias que el anti-M, esto es, del 5 al 0,1 por mil; se presenta por lo general como una aglutinina natural, pero también puede ser inmune. El anti-s es raro y siempre de variedad incompleta (Ig G.) siendo precisa para evidenciarle la antiglobulina de Coombs; en pruebas cruzadas se le ha encontrado en porcentajes inferiores al 0,1 por mil; asimismo ha sido causa de E. H. P.

En 1.953, WIENER, UNGER, GORDON y COHEN, descubrieron un nuevo anticuerpo, anti-U, que aglutinaba los hematies de todas las personas de raza blanca estudiadas y en cambio respetaba los eritrocitos de sujetos negros de Nueva York en el 1,21 % de los casos. En 1.954, GREENWALT y cols comprueban cómo los individuos que no reaccionan con el anti-U tampoco lo hacen con anti-S o anti-s, en vista de lo cual argumentaron que el anti-U pudiera ser un anti-S + anti-s e incluso anti-Ss, pues los intentos de separar el anticuerpo en dos componentes por elución o absorción fracasaron; sin embargo, esto tampoco es del todo exacto; lo cierto es que las personas que poseen este anticuerpo anti-U tienen el excepcional fenotipo S-s-,

es más, éste anticuerpo no aglutina ninguna muestra de sangre con fenotipo S-s-. Todo ello condujo a la propuesta de considerar en el sistema MNSs un tercer alelomorfo, llamado S^u, y ya WIENER decía que posiblemente el factor U se heredaba mediante un par de genes alélicos U-u, donde el gen U determinaba la presencia del factor U y el gen u su ausencia; pero quizá sea más cierto que U sea dominante respecto a u. Los hematies u u no son aglutinados por los sueros anti-S ni anti-s y SANGER creía que u era un S débil proponiendo por ello la comentada denominación de S^u; pero para que esto fuera cierto sería preciso que junto a las ausencias de S y s, esto es, en S-s- hubiera también negatividad de U y sin embargo ya veremos cómo hay sujetos S-s-U+.

Este asunto volveremos a discutirlo en el apartado de genética. Apuntemos para terminar que los individuos S-s- tienen, por lo general, un desarrollo normal de los antígenos M y N; según el grupo MN, los sujetos S-s- son designados por los fenotipos Mu, Nu o MNu; empero, las sangres de otros individuos S-s- son aglutinadas por el anti-U y se designarán por S-s-U+ y como los antígenos M y N también están desarrollados, el fenotipo de los mismos será MU, NU o MNU.

En suma, el supuesto antígeno U estaría presente en todos los eritrocitos de las personas de raza blanca y en menor número en los negros (oscilando entre 87,55% y 97,79 %) y prueba de ello es que el anti-U nunca se ha aislado en blancos y sí en unos cuantos negros. Según MOURANT las frecuencias en negros, son:

UU	79,2 %	
Uu	19,6 %	es decir, que <u>u</u> se dá
uu	2 %	en el 21,6 %

Posteriormente se han inscrito en el sistema MNSs múltiples antígenos de cuya descripción superficial nos ocuparemos seguidamente:

A) - Antígenos variantes de M y N, definidos por anticuerpos específicos:

- A-1) Antígeno M_1 : se trata de una variante cualitativa del M ordinario; es muy frecuente en negros y menos común en blancos, estimándose que alrededor del 25 % y 5 % de los genes M son M_1 , en negros americanos y blancos, respectivamente. El anticuerpo anti- M_1 forma parte de algunos sueros humanos anti-M y parece ser análogo, en comportamiento, al anti- A_1 del sistema ABO.
- A-2) Antígeno Mg: Fué descubierto por ALLEN y cols. en 1.958 y es extraordinariamente infrecuente; según METAXAS y cols se dá en el 0,153 % de la población suiza; en el sur de Inglaterra se han observado casos aislados y en EE.UU. después de analizar decenas de miles de muestras, hasta 1.966, KONUGRES no cita el segundo caso. La importancia de éste antígeno es crítica en la exclusión de la paternidad. Parece ser que el Mg es un alelo codominante de M y N y su transmisión hereditaria viene determinada por el complejo Mgs; asociado con M, ambos anti-M y anti-Mg ocasionan aglutinación, pero no con anti-N, y cuando Mg está asociado a N, ambos anti-N y anti-Mg producen aglutinación, pero no con anti-M; es decir, la presencia de antígeno Mg excluye la de M o N, de modo que sólo es posible encontrar con anti-Mg tres genotipos: M Mg, N Mg y Mg Mg. De lo dicho se desprende que el antígeno Mg no reacciona con anti-M ni con anti-N, pero sí lo hace con un anticuerpo específico, anti-Mg, de origen humano o animal, dándose la circunstancia de que el anti-Mg es el anticuerpo natural más común del sistema MNSs, alcanzando valor de hasta el 3 % aproximadamente; en la actualidad se está confeccionando en conejos.

A-3) Antígeno M^k : Es realizado por el gen M^k , que es un alelo silencioso con la particularidad de no producir antígenos M, N, S o s, ni Mg. Se puso de manifiesto gracias al anticuerpo anti- M^k , de débil actividad, encontrado en el suero humano o consecutivo a una inmunización al conejo por hematies M^k . El gen M^k hasta el presente no ha sido encontrado en estado homocigoto, y parece que la característica general de los hematies que lo portan es la de ser aparentemente homocigotos respecto a los otros antígenos, por ejemplo MMSS. El primer caso fué referido por METAXAS en tres miembros de una familia suiza.

A-4) Antígeno M^V : el gen M^V produce un antígeno que se parece a M en su comportamiento con todos los sueros M y N y se manifiesta, al igual que M y N, con carácter dominante; también se ha visto que el antígeno es más débil de lo normal cuando el M^V está presente. El anticuerpo anti- M^V se comporta como anti-N pues aglutina todos los hematies N y algunos portadores de antígeno M^V ; verdaderamente el anticuerpo anti- M^V es una asociación de anti- NM^V , cuyos dos componentes no se han logrado separar por absorción; ello explica el porqué aglutina fuertemente las células NM^V y en intensidades decrecientes las de antigenicidad N, MM^V y MN.

B) - Variantes antigénicas de M y N que carecen de anticuerpos específicos:

Abarca éste estudio todos aquellos antígenos que son variantes cuali o cuantitativas de M y N, o sea, que reaccionan de modo diferente con algunos sueros anti-M y anti-N, ya sean de origen humano, animal e incluso con extractos de la semilla vicia graminea.

- B-1) Antígeno M^C : Descrito por DUNSFORD, IKIN y -
MOURANT en 1.953, tiene la particularidad de ser
considerado como intermedio entre los antígenos M
y N pues reaccionan con todos los anti-M y algunos
anti-N, pero no con *Vicia graminea*.
- B-2) Antígeno M^F : Reacciona con todos los anti-M y débil-
mente con todos los anti-N y además se puede detec-
tar con la *Vicia graminea*.
- B-3) Antígeno M^Z : Se identifican con los anti-M y *vicia* -
graminea, pero no con los anti-N.
- B-4) Antígeno N_2 : Es una variante débil de N, descrita -
por CROME en 1.935 y tiene la singularidad de ser
aglutinado levemente por casi todos los anti-N.
- B-5) Fenotipo $M^a N$: encontrado por primera vez en un ni-
ño de cinco años, por KONUGES, BROWN y CORCO-
RAN, pudiera tratarse de un M^C ; se caracteriza el
antígeno M^a por ser un antígeno parcial con presen-
cia de anticuerpo anti-M parcial; que por supues-
to aglutina las células M pero no las M^a ; podía esta-
blecerse un paralelismo con el antígeno D parcial del
sistema Rh.
- C) - Variantes antigénicas del sistema MNSs con anticuerpos es-
pecíficos:
- Son antígenos dependientes de genes ligados a los que pro-
ducen el sistema MNSs. RACE y SANGER los llamaban -
"satélites".
- C-1) Antígenos Hunter (Hu) y Henshaw (He): Son exclusivos
de la raza negra; el Hu se dá con frecuencia del 7 %
en negros de EE. UU. de Norteamérica y del 22 % -
en africanos occidentales; el He oscila entre el 2,7 %

y el 3,2 %; ambos se manifiestan con antisueros obtenidos de conejos. La primicia sobre el antígeno Hu - la dieron LANDSTEINER, STRUTTON y CHASE en 1.934. Posteriormente, en 1.951, IKIN y MOURANT hacen referencia al antígeno He cuyo anticuerpo estaba presente en un suero de conejo anti-M, habiéndose comprobado en principio el que casi todos los antígenos He se acompañaban de antígenos N y S, en negros de Nueva York, pero en los negros del Congo y hotentotes se asocia a MS y en pápuas con Ns. Desde luego los antígenos Hu y He no tienen importancia hemoterápica pues su poder de inmunización es bajo.

C-2) Antígenos Tm y Sj: El primer ejemplo de anti-Tm lo aportaron ISSITT, HABER y ALLEN; el antígeno Tm se presenta en el 20 % de la raza blanca y en el 3 % de negros de Nueva York, acompañándose en la inmensa mayoría de las ocasiones de antígeno N. El anti-Sj fué aislado, posteriormente, en el mismo suero en que se halló el anti-Tm; el antígeno Sj aparece en el 2 % de los blancos y en el 4 % de los negros. Sendos antígenos están asociados entre sí de modo que todos los Tm + son Sj + .

C-3) Antígenos Miltenberger (Mi^a) Verweyst (Vw), Murrel - (Mu) y Hill (Hil): Estos antígenos parece como si constituyeran por sí solos un subsistema; en efecto, uno de los antígenos Vw, Mur o Hil, está presente siempre en los hematies con antígeno Mi^a , es más la sensibilización con hematies Mi^a crea anticuerpos contra alguno de los otros tres antígenos del subsistema. Miltenberger.

C-4) Antígenos Vr, Ridley (Ri^a), Stones (St^a), Sullivan (Sul), Martin (Mt^a), Caldwell (Cl^a) y Nyberg (Ny^a):

Todos ellos están bajo la dependencia de genes ligados en su transmisión a los genes del sistema MNSs y se definen por anticuerpos de origen humano; desde luego

son muy poco conocidos aunque sí se sabe que se manifiestan con carácter dominante y algunos autores los han relacionado con el subsistema Miltenberger. El Stones (St^a) es de gran incidencia en Oriente Extremo: 7 % en China y 10,9 % en Japón.

C-5) Antígeno FAR; Recientemente, en 1.973, CREGUT y cols. han referido un nuevo antígeno, antígeno FAR, muy raro, ligado posiblemente a los genes del sistema MNSs; el anticuerpo, anti-FAR, y también, excepcional, es de origen humano. Lo clasificamos en este apartado pues de él poco se sabe actualmente.

Genética.

En el sistema MNSs la complejidad genética recuerda al sistema Rh.

En principio puede apuntarse que los antígenos M, N, S y s se transmiten independientemente de los pertenecientes a otros antígenos de diferentes grupos sanguíneos y que están sujetos a las leyes de Mendell. Ya decíamos su transcendencia en la investigación de la partenidad.

Nos ceñiremos fundamentalmente a cuatro antígenos, de los cinco, por nosotros analizados, los cuales forman dos parejas de alelos estrechamente agrupados, M y N y S y s, cuyas combinaciones pueden diferenciar nueve fenotipos que corresponden a diez genotipos posibles (ver cuadro CIV).

Según lo reflejado en el cuadro CIV, existirían cuatro complejos génicos:

M S; M s; N S y N s,

los cuales, de acuerdo con WIENER (1.954), serían en verdad cuatro

<u>Fenotipos:</u>	<u>Genotipos:</u>
MS	MS/MS
MSs	MS/Ms
Ms	Ms/Ms
MNS	MS/NS
MNSs	MS/Ns ó Ms/NS
MNs	Ms/Ns
NS	NS/NS
NSs	NS/Ns
Ns	Ns/Ns

Cuadro CIV

aglutinógenos, compuestos cada uno por dos factores, esto es, aceptaríamos cuatro alelos múltiples (L^S , L, l^S y I) sintetizadores de distintos aglutinógenos:

<u>Gen</u>	<u>Factores sanguíneos:</u>
L^S	M S
L	M s
l^S	N S
I	N s

Cuadro CV

En 1.961, SCHWARZFISCHER y LIEBRICH, modifican el concepto de WIENER y proponen la anotación L^{MS} , L^{Ms} , L^{NS} y L^{Ns} , la cual crea la duda de si se trata de los alelos de un sólo lugar génico o de un "complejo alelico", compuesto de dos "alelos parciales" independientes y asentados en dos porciones génicas estrechamente acopladas; la relación entre el fenotipo y genotipo, según esta idea, queda plasmada en el cuadro CVI.

<u>Genotipo:</u>		<u>Fenotipo:</u>
L^{MS} / L^{MS}		MMS
L^{MS} / L^{Ms}		
L^{Ms} / L^{Ms}		MMss
L^{MS} / L^{NS}		MNS
L^{MS} / L^{Ns}		
L^{Ms} / L^{NS}		
L^{Ms} / L^{Ns}		MNss
L^{NS} / L^{NS}		NNS
L^{NS} / L^{Ns}		
L^{Ns} / L^{Ns}		NNss

Cuadro CVI

Frente a estas teorías, RACE y SANGER defienden la hipótesis de varios pares de genes autosómicos ocupantes de lugares vecinos en el mismo cromosoma y según la cual junto a la serie de alelos M y N, con sus variantes, estarían la correspondiente a los alelos S y s y sus variantes y, por último, otros alelos de mayor rareza situados en distintos puntos génicos. En favor de este razonamiento están las observaciones de CHOWN (1.965) de entrecruzamientos entre MN y Ss, o bién las mutaciones de M a N o de s a S vistas por GEDDE-DAHL, GUNDERSON y VOGT, e incluso MURKEN (1.967) cita un intercambio de factores entre los lugares génicos MN y Ss.

Sin embargo, la conclusión actual es que no es posible decidir si el sistema MNSs se compone de varias series de alelos situados en locus estrechamente vinculados entre sí, o bién si lo integran alelos múltiples en un sólo locus. Y en este sentido no debemos olvidar que

PROKOP y UHLENBRUCK (1.965) sentencian que las variantes M_2 y N_2 son producto de anomalías hereditarias de la membrana celular, las cuales ocasionan diferencias serológicas frente a los caracteres normales M y N.

El conocimiento del antígeno U y su ubicación en el sistema MNSs indujo a WIENER a introducir en su teoría de alelos múltiples un tercer alelomorfo, de modo que el cuadro CV quedaría así modificado:

<u>GEN</u>	<u>Aglutinógeno correspondiente</u>	<u>Factores sanguíneos presentes</u>
L^s	M, S	M, S, U
L	M, s	M, s, U
L^u	M, u	M
l^s	N, S	N, S, U
l	N, s	N, s, u
l^u	N, u	N

Cuadro CV- b

En consecuencia sea cual fuera la hipótesis de las descritas, la cierta, la combinación de los cuatro factores o antígenos fundamentales es responsable de los nueve fenotipos que en el cuadro CIV hemos referido, y cuyos cruzamientos posibles dan lugar a veintiún fenotipos diferentes (ver cuadro CVII); estos veintiún fenotipos corresponden a cincuenta y cinco genotipos distintos.

Las recombinaciones o anomalías cromosómicas que conllevan la ausencia de antígenos presentes en los padres o viceversa son muy raros, pero pueden suceder; por ello siempre es obligado antes de considerar estas aberraciones genéticas, descartar el cambio accidental de un recién nacido o ilegitimidad; estas desviaciones pueden descartarse o ratificarse con ayuda de otros antígenos, de diferentes sistemas de grupo sanguíneo, estudiados, e incluso con la investigación de las

variantes antigénicas de éste mismo sistema, referidas en el apartado anterior, las cuales por demás pueden dar la apariencia de excepciones en la herencia normal del sistema MNSs.

Ms/Ms x Ms/Ms	MMS x MMS	MNS x Ms/Ns
Ms/Ms x MMS	MMS x Ms/Ns	MNS x MNS
Ms/Ms x Ms/Ns	MMS x MNS	MNS x Ns/Ns
Ms/Ms x MNS	MMS x Ns/Ns	MNS x NNS
Ms/Ms x Ns/Ns	MMS x NNS	Ms/Ns x Ms/Ns
Ms/Ms x NNS		Ms/Ns x Ns/Ns
	Ms/Ns x NNS	
	Ns/Ns x Ns/Ns	
	Ns/Ns x NNS	
	NNS x NNS	

Cuadro CVII

Las frecuencias génicas y genotípicas aportadas por SANGER y RACE, en 1.947, en un estudio verificado sobre 1.279 ingleses fueron:

-frecuencia del gen M	= 0,53165
-frecuencia del gen N	= 0,46835
-frecuencia del genotipo M M... (0,53165) ²	= 0,28265
-frecuencia del genotipo M N... 0,53165 x 0,46835 x 2 =	0,49780
-frecuencia del genotipo N N ... (0,46835) ²	= 0,21935

Cuadro CVIII

Datos éstos cercanos a los posteriormente manifestados por diferentes investigadores.

En cuanto a las frecuencias referidas a los genes S y s se aceptan como medias las siguientes:

-frecuencia del gen S	= 0,32250
-frecuencia del gen s	= 0,67750
-frecuencia del genotipo S S	$(0,32250)^2$ = 0,10400
-frecuencia del genotipo S s	$0,32250 \times 0,67750 \times 2$ = 0,43698
-frecuencia del genotipo s s	$(0,67750)^2$ = 0,45900

Cuadro CIX

La inclusión del alelo S^u , tomando las cifras que FRANCIS y HATCHER aportan en 1.966, en estudio realizado sobre 322 negros de Houston, dá los resultados que siguen: la frecuencia del alelo S^u la deducen de la raíz cuadrada de la proporción de S-s en la muestra (0,0155) que es 0,1245; el cálculo de s lo realizaron siguiendo la fórmula ya aplicada por nosotros en el sistema Duffy para conocer el valor de Fy^b a partir de Fy , ésto es:

siendo $S^u = 0,1245$ (estimado)

0,6677 = valor decimal de la frecuencia observada en las muestras S negativo.

$$s = \frac{-2 S^u + \sqrt{(2 S^u)^2 + 4 \times 0,6677}}{2} =$$

$$= \frac{-(2 \times 0,1245) + \sqrt{(2 \times 0,1245)^2 + 4 \times 0,6677}}{2} = 0,7021$$

$$S = 1 - (S^u + s) = 1 - (0,1245 + 0,7021) = 0,1734$$

Luego:

-frecuencia del gen S	0,1734
-frecuencia del gen s	0,7021
-frecuencia del gen S^u	0,1245 (estimado)

En cuanto a las frecuencias de los complejos génicos, siguiendo los datos tomados ^{de} WALSH y MONTGOMERY, los cálculos de FISHER, son:

-frecuencia del complejo génico M S	0,2472
-frecuencia del complejo génico M s	0,2831
-frecuencia del complejo génico N S	0,0802
-frecuencia del complejo génico Ns	0,3895

Cuadro CXI

En base a estos resultados podemos conocer el valor decimal de las frecuencias calculadas o esperadas de los genotipos del sistema MNSs (cuadro CXII).

Genotipo:		Frecuencia decimal calculada:	
MS/MS	$(0,2472)^2$	0,061107	} 0,201071
MS/Ms	$0,2472 \times 0,2831 \times 2$	0,139964	
Ms/Ms	$(0,2831)^2$	0,080145	
MS/NS	$0,2472 \times 0,0802 \times 2$	0,039651	} 0,277629
MS/Ns	$0,2472 \times 0,3895 \times 2$	0,192569	
Ms/NS	$0,2831 \times 0,0802 \times 2$	0,045409	} 0,068907
Ms/Ns	$0,2831 \times 0,3895 \times 2$	0,220535	
NS/NS	$(0,0802)^2$	0,006432	
NS/Ns	$0,0802 \times 0,3895 \times 2$	0,062475	
Ns/Ns	$(0,3895)^2$	0,151710	
	Total	0,999997	

Cuadro CXII

Ya hemos manifestado reiteradamente el interés del sistema MNSs en la investigación de la paternidad; por esta razón creemos que el apartado quedaría incompleto si no hiciéramos los comentarios siguientes. La inclusión en los grupos MN de los antígenos S y s in-

FENOTIPOS
HIJOS POSIBLES

PARREJAS	HIJOS POSIBLES
Ms/Ms x Ms/Ms	Ms/Ms
Ms/Ms x MMS	Ms/Ms Ms/Ms
Ms/Ms x Ms/Ns	Ms/Ms Ms/Ns
Ms/Ms x Ne/Ns	Ms/Ms Ms/Ns
Ms/Ms x MNS	Ms/Ms Ms/Ns
Ms/Ms x NNS	Ms/Ms Ms/Ns
MMS x MMS	MMS
MMS x Ms/Ns	MMS Ms/Ns
MMS x MNS	MMS Ms/Ns
MMS x Ns/Ns	MMS Ms/Ns
MMS x NNS	MMS Ms/Ns
MNS x Ms/Ns	MNS Ms/Ns
MNS x MNS	MNS Ms/Ns
MNS x Ns/Ns	MNS Ms/Ns
MNS x NNS	MNS Ms/Ns
Ms/Ns x Ms/Ns	Ms/Ns Ms/Ns
Ms/Ns x Ns/Ns	Ms/Ns Ns/Ns
Ms/Ns x NNS	Ms/Ns Ns/Ns
Ns/Ns x Ms/Ns	Ns/Ns Ms/Ns
Ns/Ns x Ns/Ns	Ns/Ns
Ns/Ns x NNS	Ns/Ns
NNS x NNS	NNS

Penotipos posibles en la descendencia,
según el fenotipo de los padres.

Cuadro CXIII

crementa el valor de los mismos en medicina legal; así, por caso, una madre MN puede inculpar de la paternidad de su hijo a cualquier hombre MN; pero el uso de los sueros anti-S y anti-s puede excluirle si se aprecia que su genotipo es Ms/Ns, la madre Ms/Ns y el niño MS/MS. La presencia del antígeno Mg en el hijo y el presunto padre tiene valor definitivo. En el cuadro CXIII representamos los fenotipos posibles en la descendencia de acuerdo con el que presentan los padres.

Por último, al igual que en el sistema Duffy, el efecto de dosis de los genes MN se dejó notar a poco de su descubrimiento y fueron los propios LANDSTEINER y LEVINE quienes ya señalaban como las reacciones con anti-N parecían más fuertes, en gran número de casos, cuando el antígeno M estaba ausente; esto es, dos genes N facilitan más el descubrimiento del antígeno N que uno sólo. Del mismo modo se pudo constatar posteriormente el efecto de dosis del gen s; RACE y SANGER dicen que "este efecto es tan marcado con algunos sueros que es posible, a partir de un resultado anti-s, predecir correctamente la reacción de la muestra con anti-S" y la medición de la dosis con anti-M, -N, -S y -s es de vital utilidad para desenmascarar la mayoría de los alelos nuevos, en particular de Mg y M^k.

Sistema MNSs y las enfermedades. Su distribución geográfica.

Parece estar fuera de toda duda la estrecha relación que existe entre una enfermedad rara de la piel y el sistema MNSs, de ello dejó constancia MENNECIER, M, en su tesis doctoral y más tarde se ratificó en los estudios de HURIEZ, MENNECIER y cols; el citado padecimiento es una genodermatosis escleroatrofiante y queratodérmica que afecta a las extremidades.

Son múltiples las investigaciones que buscan una distribución geográfica de los antígenos MNSs. Esquemáticamente puede consignarse que salvo en muy contados ejemplos, los antígenos del sistema MNSs, globalmente considerados, no presentan definitivos caracteres individualizantes de unas razas a otras; es decir, podrán ser más o me-

nos frecuentes en determinadas muestras hematológicas investigadas en paralelismo con la zona geográfica rastreada, pero estas diferencias, poco acusadas, como se verá, no tienen relación étnica y desde luego no se puede decir que tal o cual complejo génico esté ausente o muy presente en ciertas poblaciones humanas. Esto, que tiene un valor superior para los antígenos básicos M, N, S, s y U, es igualmente aplicable a la casi totalidad de los antígenos de segundo orden; empero los antígenos Hunter y Henshaw son exclusivos de la raza negra, y otros son de gran significación genética, por el caso, el Stones (St^a) de elevada incidencia en Extremo Oriente.

No obstante, al singularizar se aprecian ciertos datos que referimos. El antígeno M alcanza su máxima aparición, entre el 90 % y el 95 % en nativos de Centroamérica y sus zonas colindantes de América del Norte y América del Sur, en tanto que su índice más bajo, inferior al 30 %, se localiza en Nueva Guinea y aborígenes del Sur de Australia. En Europa occidental y Africa los valores oscilan entre el 50 % y el 65 %; en Europa oriente, Asia central e India se eleva hasta el 70 %.

El antígeno S es en Africa poco frecuente (20 %), en tanto que en Europa viene a darse en el 54 % de la población y en la India está mucho más difundido; en Australia casi nunca se aísla y en Nueva Guinea su incidencia es similar a la africana.

Un dato de interés es que el antígeno s, en lapones noruegos, se asocia con mayor frecuencia a M que a N.

Material y métodos de Laboratorio.

Las muestras de sangre empleadas para la investigación que referimos fueron tomadas el mismo día de la prueba y pertenecían a donantes de sangre y enfermos del Hospital Clínico de San Carlos; tanto éstos como sus ascendientes eran nativos de España, sin vínculos familiares entre sí, adultos, de ambos sexos y procedentes de distintas regiones españolas.

Para el estudio se utilizaron antisueros humanos, de alta calidad y previamente probados, cada lote, con controles positivos y negativos; los anti-Mg, anti-M y anti-N humanos eran naturales, por lo cual las reacciones se plantearon en solución salina fisiológica a temperatura igual o menor a los 20° C; en cambio los anti-S y anti-s usados eran humanos e inmunes (Ig. G) por lo que requirieron la técnica de Coombs indirecto.

Dentro del grupo de antígenos que son destruidos por las enzimas proteolíticas (ver cuadro CXXXI) figuran los antígenos M, N y S; por esta razón el empleo de métodos enzimáticos está proscrito.

El número de receptores antigénicos S y s en la membrana del eritrocito es bajo y ello explica que las reacciones antígeno-anticuerpo sean más débiles que para M y N, y ello demanda una lectura de resultados muy cuidadosa.

Todas las muestras de sangre fueron sometidas a lavados previos en solución salina fisiológica al 0,9 % (S.S.F.), con la finalidad de suprimir todo material protéico del plasma que pudiera ocultar aglutinaciones o provocar falsas aglutinaciones.

Los sueros anti-Mg, anti-S y anti-s nos fueron proporcionados en forma liofilizada, siendo preciso reconstituirlos con 1 ml. de agua destilada y estéril; si por algún motivo el uso de los antisueros reconstituídos hubo que demorarlo, lo conservamos congelado y nunca por tiempo superior a los cinco días.

Los procedimientos seguidos fueron:

A) - Determinación de antígenos M y N:

1) Se preparó una suspensión al 2-5 % de hematies en S.S.F., previamente lavados.

2) Colocamos dos gotas de sueros anti-M en un tubo de hemolisis y añadimos dos gotas de la suspensión de hematies. Si la determinación es para el antígeno N empleamos suero anti-N.

3) Agitamos bien y dejamos reposar la mezcla durante 10-15 minutos a temperatura ambiente.

4) Centrifugamos durante dos minutos a 3.000 r.p.m. en serofuga, modelo Clay-Adams.

5) Desprendemos suavemente el sedimento de hematies y hacemos lectura macroscópica, Anotamos los resultados.

B) - Determinación de los antígenos S y s:

1) Primero reconstituimos los sueros liofilizados.

2) Preparamos una suspensión al 2-5 % de hematies en S.S.F. y lavados previamente.

3) En tubo de hemolisis ponemos dos gotas de esa suspensión de hematies y añadimos dos gotas de suero anti-S o anti-s, según el caso.

4) Mezclamos e incubamos en baño María a 37 ° C, durante 30 minutos.

5) Agitamos el tubo y añadimos S.S.F; mezclamos y centrifugamos; extraemos el sobrenadante; repetimos esta operación de lavado hasta un total de tres veces.

6) Añadimos a los hematies así preparados dos gotas de suero antiglobulina de Coombs; agitamos y los dejamos en reposo dos minutos.

7) Centrifugamos en serofuga, modelo Clay-Adams, a 3.000 r.p.m. durante un minuto.

8) La lectura es macroscópica y por agitación suave.

Nuestra casuística.

Verificamos el estudio del sistema MNSs en 1.547 muestras de sangre de procedencia ya comentada en el anterior apartado.

El examen está dedicado a los antígenos M, N, S y s y Mg; los restantes antígenos del sistema tienen valor secundario, amén de la dificultad que encierra hallar los sueros correspondientes.

Aclaremos que lógicamente la búsqueda del antígeno Mg se realizó en un total de 777 personas, esto es, en sólo aquellas que eran homocigotos MM o NN. En ninguna ocasión detectamos el mencionado antígeno Mg, cuestión ésta nada extraña si recordamos que la presencia de Mg es extraordinariamente infrecuente.

Sirviéndonos de los correspondientes antisueros, encontramos los resultados siguientes:

anti-M	aglutinó	a	1.201	muestras
anti-N	aglutinó	a	1.116	muestras
anti-S	aglutinó	a	829	muestras
anti-s	aglutinó	a	1.374	muestras
anti-Mg NO	aglutinó	a	777	muestras

Cuadro CXIV

Por lo tanto la frecuencia de aparición de los antígenos fué:

Antígeno M	77,634130	%
Antígeno N	72,139625	%
Antígeno S	53,587588	%
Antígeno s	89,010989	%
Antígeno Mg	0,000	%

Cuadro CXV

En consecuencia las frecuencias observadas de genotipo fueron para los antígenos M y N:

GENOTIPOS	FRECUENCIAS OBSERVADAS	
	Valor absoluto	Valor decimal
M M	431	0,278603
M N	770	0,497737
N N	346	0,223659
Total ...	1.547	0,999999

Cuadro CXVI

Y para los antígenos S y s:

GENOTIPOS	FRECUENCIAS OBSERVADAS	
	Valor absoluto	Valor decimal
S S	173	0,111829
S s	656	0,424046
s s	718	0,464124
Total ...	1.547	0,999999

Cuadro CXVII

Las frecuencias génicas se calcularon con las fórmulas de WIENER y VAISEBERG:

$$p = \text{gen M} = \frac{M M}{n^{\circ}} + \frac{1/2 \times MN}{n^{\circ}} = \frac{431}{1.547} + \frac{1/2 \times 770}{1.547} = 0,527472$$

$$q = \text{gen N} = \frac{M N}{n^{\circ}} + \frac{1/2 \times M N}{n^{\circ}} = \frac{346}{1.547} + \frac{1/2 \times 770}{1.547} = 0,472527$$

$$p + q = 1 \quad ; \quad 0,527472 + 0,472527 = 0,999999.$$

Para los genes S y s:

$$r = \text{gen S} = \frac{S S}{n^{\circ}} + \frac{1/2 \times S s}{n^{\circ}} = \frac{173}{1.547} + \frac{1/2 \times 656}{1.547} = 0,323852$$

$$t = \text{gen s} = \frac{s s}{n^{\circ}} + \frac{1/2 \times S s}{n^{\circ}} = \frac{718}{1.547} + \frac{1/2 \times 656}{1.547} = 0,676147$$

$$r + t = 1 \quad ; \quad 0,323852 + 0,676147 = 0,999999$$

Es decir:

Frecuencia del gen M	0,527472
Frecuencia del gen N	0,472527
Frecuencia del gen S	0,323852
Frecuencia del gen s	0,676147

Cuadro CXVIII

En base a estas frecuencias génicas, dedujimos las frecuencias calculadas de los genotipos de los genes M y N; valiéndonos para tal efecto de las fórmulas que exponemos:

FRECUENCIAS CALCULADAS

<u>Valor decimal:</u>		
Frecuencia del genotipo MM:	$(0,527472)^2$	= 0,278227
Frecuencia del genotipo MN:	$0,527472 \times 0,472527 \times 2$	= 0,498490
Frecuencia del genotipo NN:	$(0,472527)^2$	= 0,223288
<u>Valor absoluto:</u>		
Frecuencia del genotipo MM:	$1.547 \times 0,278227$	= 430,417
Frecuencia del genotipo MN:	$1.547 \times 0,498490$	= 771,164
Frecuencia del genotipo NN:	$1.547 \times 0,223282$	= 345,417

Cuadro CXIX

En definitiva los cuadros CXVI y CXIX se pueden agrupar - en el cuadro CXX.

FRECUENCIA DE LOS GENOTIPOS M y N

GENO-TIPO	FRECUENCIA OBSERVADA		FRECUENCIA CALCULADA	
	Valor absoluto	Valor decimal	Valor absoluto	Valor decimal
M M	431	0,278603	430,417	0,278227
M N	770	0,497737	771,164	0,498490
N N	346	0,223659	345,417	0,223282
Total	1.547	0,999999	1.546,998	0,999999

Cuadro CXX

Comparando en el cuadro CXX los valores absolutos observados con los calculados, con el fin de determinar si hay equilibrio genético en las muestras analizadas:

$$\chi^2 = \frac{(431 - 430,417)^2}{430,417} + \frac{(770 - 771,164)^2}{771,164} + \frac{(346 - 345,417)^2}{345,417} =$$

$$= 0,0007 + 0,0017 + 0,0009 = 0,0033$$

Para este valor de χ^2 (0,0033), con un grado de libertad, hallamos una probabilidad externa o derecha (p) mayor de 0,95 (p > 0,95), es decir, no hay diferencia significativa y por ello la población investigada está en equilibrio genético.

Veamos ahora cuáles son las frecuencias calculadas para los genes S y s:

FRECUENCIAS CALCULADAS

	<u>Valor decimal:</u>	
Frecuencia del genotipo SS:	$(0,323852)^2$	0,104880
Frecuencia del genotipo Ss:	$0,323852 \times 0,676147 \times 2$	= 0,437944
Frecuencia del genotipo ss:	$(0,676147)^2$	= 0,457175
	<u>Valor absoluto:</u>	
Frecuencia del genotipo SS:	$1.547 \times 0,104880$	= 162,249
Frecuencia del genotipo Ss:	$1.547 \times 0,437944$	= 677,499
Frecuencia del genotipo ss:	$1.547 \times 0,457175$	= 707,249

Cuadro CXXI

Y los cuadros CXVII y CXXI pueden refundirse en el cuadro -
CXII:

GENO TIPO	FRECUENCIA OBSERVADA		FRECUENCIA CALCULADA	
	Valor absoluto	Valor decimal	Valor absoluto	Valor decimal
S S	173	0,111829	162,249	0,104880
S s	656	0,424046	677,499	0,437944
s s	718	0,464124	707,249	0,457175
Total	1.547	0,999999	1.546,997	0,999999

Cuadro CXXII

Comparando en el cuadro CXXII los valores absolutos obser-
vados con los calculados, a fin de conocer el valor de χ^2 , tendríamos:

$$\chi^2 = \frac{(173 - 162,249)^2}{162,249} + \frac{(656 - 677,499)^2}{677,499} + \frac{(718 - 707,249)^2}{707,249} =$$

$$= 0,7123 + 0,6822 + 0,1634 = 1,5579$$

Para este valor de χ^2 (1,5579), con un grado de libertad, hallamos una probabilidad externa (p) comprendida entre 0,20 y 0,30 ; cómo un χ^2 igual a 3,841 corresponde a un p = 0,05 que es el límite de las diferencias significativas y nuestra probabilidad derecha es superior a este valor 0,05, quiere decir que las muestras analizadas pueden considerarse en equilibrio genético.

En función del equilibrio genético, establecimos, para M y N, los distintos cruzamientos posibles a expensas de las frecuencias -
teóricas de dichos cruzamientos génicos:

<u>Cruzamientos posibles</u>	<u>Frecuencias teóricas de genotipos</u>
M M x M M ... M ⁴	(0, 527472) ⁴
M M x M N ... 4 M ³ N ...	4 (0, 527472) ³ x 0, 472527
M M x N N ... 2 M ² N ² ...	2 (0, 527472) ³ x (0, 472527) ²
M N x M N ... 4 M ² M ² ...	4 (0, 527472) ² x (0, 472527) ²
M N x N N ... 4 M N ³ ...	4 (0, 527472) x (0, 472527) ³
N N x N N ... N ⁴	(0, 472 527) ⁴

Cuadro CXXIV - a

Por lo tanto, según nuestra casuística, las frecuencias calculadas para los distintos cruzamientos serán:

<u>Cruzamientos posibles</u>	<u>Frecuencias calculadas</u>
M M x M M	0, 0774100
M M x M N	0, 2773860
M M x N N	0, 1242458
M N x M N	0, 2484916
M N x N N	0, 2226068
N N x N N	0, 0498547

Cuadro CXXV - a

La distribución de frecuencias esperadas o calculadas de los genotipos posibles de M y N en padres e hijos, siempre siguiendo nuestros datos, quedan reflejadas en el cuadro CXXIII.

Igualmente pueden establecerse los diferentes cruzamientos posibles para los genes S y s, con los resultados que expresamos en el cuadro CXXIV -b.

<u>Cruzamientos posibles</u>	<u>Frecuencias teóricas de genotipos</u>
S S x S S	$S^4 \dots \dots \dots (0,323852)^4$
S S x S s	$4 S^3 s \dots \dots 4 (0,323852)^3 \times 0,676147$
S S x s s	$2 S^2 s^2 \dots \dots 2 (0,323852)^2 \times (0,676147)^2$
S s x S s	$4 S^2 s^2 \dots \dots 4 (0,323852)^2 \times (0,676147)^2$
S s x s s	$4 S s^3 \dots \dots 4 (0,323852) \times (0,676147)^3$
s s x s s	$s^4 \dots \dots (0,676147)^4$

Cuadro CXXIV - b

Consecuentemente las frecuencias calculadas de los distintos - cruzamientos serán:

<u>Cruzamientos posibles</u>	<u>Frecuencias calculadas</u>
S S x S S	0,0109998
S S x S s	0,0918628
S S x s s	0,0958970
S s x S s	0,1917940
S s x s s	0,4004328
s s x s s	0,2090087

Cuadro CXXV - b

La distribución de frecuencias calculadas de los genotipos posibles de S y s en padres e hijos se plasman en el cuadro CXXVI.

El estudio conjunto de los cuatro antígenos referidos (M, N, S y s) en las 1.547 muestras analizadas arrojó los porcentajes que citamos:

GENOTIPO	FENOTIPO	Nº Casos	Frecuencias(%)
MMSS	MS	96	6,205559
MMSs	MSs	228	14,738202
MMss	Ms	107	6,916612
MNSS	MNS	63	4,072398
MNSs	MNSs	334	21,590174
MNss	MNs	373	24,111182
NNSS	NS	14	0,904977
NNSs	NSs	94	6,076276
NNss	Ns	238	15,384615
Total		1.547	99,999995

Cuadro CXXVII

En el comentario final haremos una comparación con los porcentajes obtenidos por otros autores.

En el cuadro CXI ya dejábamos constancia de la existencia de cuatro complejos génicos que componen el sistema MNSs. Pues bien, hemos calculado, tomando como modelo las reglas dictadas por FISHER, las frecuencias de estos complejos génicos y valiéndonos de ellos los recombinamos en el cuadro CXXVIII para conocer las proporciones esperadas de los genotipos.

Las frecuencias de los complejos génicos fueron:

- (a) M S = 0,218022
- (b) M s = 0,315089
- (c) N S = 0,152706
- (d) N s = 0,314182

Siendo $a + b + c + d = 0,999999$

la frecuencia calculada o esperada de los genotipos posibles con la combinación de estos complejos será:

<u>Genotipo:</u>		<u>Frecuencia decimal calculada :</u>	
(a ²)	MS/MS	(0, 218022) ²	0, 047533
(2ab)	MS/Ms	0, 218022 x 0, 315089 x 2	0, 137392
			} 0, 184925
(b ²)	Ms/Ms	(0, 315089) ²	0, 099281
(2ac)	MS/NS	0, 218022 x 0, 152706 x 2	0, 066586
(2ad)	MS/Ns	0, 218022 x 0, 314182 x 2	0, 136997
(2bc)	Ms/NS	0, 315089 x 0, 152706 x 2	0, 096232
			} 0, 299815
(2bd)	Ms/Ns	0, 315089 x 0, 314182 x 2	0, 197990
(c ²)	NS/NS	(0, 152706) ²	0, 023319
(2cd)	NS/Ns	0, 152706 x 0, 314182 x 2	0, 095955
			} 0, 119274
(d ²)	Ns/Ns	(0, 314182) ²	0, 098710
		Total	0, 999995

Cuadro CXXVIII

PAREJAS		FRECUECIAS CALCULADAS		HIJOS								
		FRECUECIAS TEORICAS		FRECUECIAS CALCULADAS		M M		M N		N N		
Cruzamientos		M M	M N	M N	N N	M M	M N	M N	N N	M M	M N	N N
M M x M M	0,0774100	M ⁴	--	--	--	0,0774100	--	--	--	0,0774100	--	--
M M x M N	0,2773860	2M ³	2M ³ N	--	--	0,1386930	0,1386930	0,1386930	--	0,1386930	0,1386930	--
M M x N N	0,1242458	--	2M ² N ²	--	--	--	--	0,1242458	--	--	0,1242458	--
M N x M N	0,2484916	M ² N ²	2M ² N ²	M ² N ²	M ² N ²	0,0621229	0,1242458	0,1242458	0,0621229	0,0621229	0,1242458	0,0621229
M N x N N	0,2226068	--	2MN ³	2MN ³	2MN ³	--	0,1113034	0,1113034	--	--	0,1113034	0,1113034
N N x N N	0,0498547	--	--	N ⁴	N ⁴	--	--	--	--	--	--	0,0498547
Total	0,9999949					0,2782269	0,4984880	0,4984880	0,2232810	0,2782269	0,4984880	0,2232810

Relación de frecuencias teóricas y calculadas
para la descendencia, según resultados
nuestro trabajo

Cuadro CXXIII

G E N O T I P O S

PAREJAS	FRECUECIAS CALCULADAS		H I J O S			
	FRECUECIAS TEORICAS		FRECUECIAS CALCULADAS			
Cruzamientos	S S	S s	S s	S s	S s	S s
S S x S S	0,0109998		S ⁴	--	--	0,0109998
S S x S s	0,0918628	2S ³ s	--	--	0,0459314	0,0459314
S S x s s	0,0958970	2S ² s ²	--	--	0,0958970	--
S s x S s	0,1917940	S ² s ²	2S ² s ²	S ² s ²	0,0479485	0,0958970
S s x s s	0,4004328	2Ss ³	--	2Ss ³	0,2002164	0,2002164
s s x s s	0,2090087	--	--	s ⁴	--	0,2090087
Total	0,9999951				0,1048797	0,4379418
						0,4571736

Revisión de frecuencias teóricas y calculadas para la descendencia, según resultados de nuestro estudio

Cuadro CXXVI

Comentario final.

La importancia práctica de los grupos sanguíneos encuadrados en el sistema MNSs, como ha podido colegirse de lo descrito en este capítulo, se proyecta principalmente en el estudio sobre la descendencia; no obstante, ya se ha apuntado la posibilidad de inmunización por los antígenos M, N, S y s y preferentemente por estos dos últimos; en nuestra investigación no hemos aislado ningún anticuerpo irregular correspondiente a los referidos antígenos.

Pero, por supuesto, existe un tercer aspecto interesante, cual es el examen de la población española con una visión genética y sus posibles desviaciones en relación al orden general de distribución geográfica de los genes que integran el sistema MNSs. Antes de exponer esta última vertiente, deseamos dejar constancia de la comprobación que en nuestras pruebas hemos tenido sobre el "efecto de dosis", así como de la necesidad de repetir algunos estudios por incongruencia de resultados, circunstancia ésta motivada por el bajo número de receptores antigénicos S y s que en la membrana del eritrocito hay.

En el cuadro CXIX hacemos un estudio comparativo de complejos génicos:

Complejos génicos	WALSH y MONTGOMERY	CLEGHORN	CHOWN y	NOSOTROS
M S	0, 2472	0, 2371	0, 2546	0, 218022
M s	0, 2831	0, 3054	0, 3043	0, 315059
N S	0, 0802	0, 0709	0, 0607	0, 152706
N s	0, 3895	0, 3866	0, 3804	0, 314182

Cuadro CXXIX

En el cuadro CXXX desarrollamos las frecuencias de genotipos halladas por diferentes autores, junto a las nuestras.

La ausencia del antígeno Mg en nuestras investigaciones confirma su extraordinaria rareza.

GENOTIPO	Incidencia media en la raza blanca	PETTENKOFER	LEVINE	NOSOTROS
MMSS	6,0 %	7,10 %	6,10 %	6,20 %
MMSs	14,0 %	16,60 %	14,00 %	14,73 %
MMss	8,0 %	9,50 %	8,00 %	6,91 %
MNSS	4,0 %	2,60 %	4,00 %	4,07 %
MNSs	23,0 %	16,00 %	23,80 %	21,59 %
MNss	23,0 %	14,90 %	22,00 %	24,11 %
NNSS	0,5 %	1,00 %	0,60 %	0,90 %
NNSs	6,5 %	9,40 %	6,30 %	6,07 %
NNss	15,0 %	22,90 %	15,20 %	15,38 %

Cuadro CXXX

El análisis numérico de sendos cuadros nos permite concluir que - nuestro balance estadístico apenas difiere de los datos aportados por otros investigadores y pese a encontrar un distanciamiento en los complejos génicos NS y Ns, así como en el genotipo MMss, los resultados finales quedan claramente compensados al entrar de lleno en el equilibrio genético probado en su lugar oportuno; estas desviaciones, no significativas, dimanar de las frecuencias por nosotros encontradas para los genotipos de S y s, pues como se recordará el valor de χ^2 para los genes S y s era de 1,5579 y la probabilidad externa estaba comprendida entre 20 % y 30 %.

CAPITULO X

ANTICUERPOS IRREGULARES

Su trascendencia en la transfusión sanguínea. - Métodos para su de
tección. - Nuestra casuística. - Comentario final.

Tenemos la firme convicción, entre otras motivaciones, de que este capítulo sobre anticuerpos inmunes era necesario como - complemento del estudio que acerca de antígenos eritrocitarios de grupo sanguíneo hemos expuesto, básicamente como justificante de la obligación que debe presidir todo Hemobanco en cuanto a conside
rar las eventualidades peligrosas que deriven de la transfusión de sangre. Ciertamente, amén de otras amenazas, tales como posibles transmisión de enfermedades, accidentes biológicos, sobrecarga cir
culatoria, etc., es la transfusión de sangre incompatible la que en
juicia, en primer grado, la categoría del personal sanitario que integra el Banco de Sangre y ello porque, por fortuna, hoy disponemos de medios y técnicas suficientes para evitar en su cási totalidad la administración al receptor de antígenos extraños, de mayor o menor potencialidad antigénica. La capacidad de una persona para formar anticuerpos contra un antígeno eritrocitario humano está determinada por la ausencia del antígeno en sus propios hematíes; pero en la for
mación de estos anticuerpos influyen diversas circunstancias; así, - unas personas tienen una capacidad menor que otras para producirlos, lo cual puede ser una característica hereditaria; de otro lado, - el intervalo transcurrido entre la estimulación y la intensidad de és
ta son factores determinantes del grado de respuesta inmunitaria; pero también hay que valorar la riqueza antigénica del propio antígeno, de modo que algunos ocasionan más alta sensibilización (Rh, por -

ejemplo) que otros (Duffy, por ejemplo) aún administrados en las mismas condiciones y cantidades.

No se trata, en realidad, de investigar todos los antígenos de grupo sanguíneo, en donante y receptor de su sangre, cuestión por demás inabordable, por razones de ^{tiempo} tipo y economía, sino de evitar el ingreso en el organismo del enfermo de antígenos con alto poder inmunizante o de la presencia en el receptor de anticuerpos incompatibles con los antígenos que se le transfunden. La posibilidad de administrar a un enfermo sangre exactamente igual a la suya propia es muy lejana, pero se ha calculado que quizás sea menor de 1 en 1.000.000 y ello valorando solamente aquellos antígenos para los cuales pueden efectuarse pruebas demostrativas de su existencia; un simple recordatorio de lo expuesto en el capítulo III nos ratifica lo que estamos comentando. Estos efectos indeseables pueden salvarse merced a las pruebas cruzadas entre las sangres de donador y receptor.

Métodos para su detección:

Nosotros dentro de los estudios inmunohematológicos que sistemáticamente hacemos a todos los donantes de sangre, incluimos la investigación de estos anticuerpos irregulares (cuadro I), metódica que extendemos al examen de todo receptor. En el caso posible de detectar un anticuerpo irregular nos vemos obligados a buscar una sangre que carezca del antígeno correspondiente a aquel anticuerpo. De aquí la importancia de nuestro trabajo.

Para la determinación de anticuerpos irregulares, a causa de su elevada variedad serológica (ver cuadros II y III), no se puede emplear una sola prueba; en efecto, hay que recurrir a la combinación de diferentes métodos analíticos con el fin de hallar el mayor número posible de anticuerpos específicos, así como de sus va-

riedades serológicas. No se conoce un único proceder que identifique por sí sólo todos los anticuerpos de grupo sanguíneo conocidos (ver capítulo III); algunos de los factores que inciden en la elección del método son los diferentes tipos y variedades de anticuerpos, la temperatura óptima, el medio ideal en que se manifiestan, el efecto de dosis, etc. (ver capítulo IV). En algunos casos se puede aumentar la sensibilidad de la reacción antígeno-anticuerpo con la adición de enzimas proteolíticas (bromelina, papaina, tripsina, etc.) y en otros se emplea la técnica de Coombs indirecta, con cuya ayuda pueden aislarse anticuerpos bloqueantes.

A) - Prueba de antiglobulina; prueba de Coombs indirecta. -

Fué descrita por primera vez en 1.906 por MORES - CHI y redescubierta en 1.945 por COOMBS, MOURANT y RACE. Se basa en dos reacciones específicas de antígenos con anticuerpos (ver figura XXII)

1 - Primera reacción o "fase de sensibilización":

Anticuerpos específicos bloqueantes son enfrentados a - los receptores eritrocitarios produciéndose la unión, no aglutinación, del antígeno con el anticuerpo. Estos anticuerpos específicos son en su mayoría globulinas Ig.G., aunque también pueden ser de naturaleza Ig.M.

Esta sensibilización puede ser ocasionada "in vivo", como consecuencia de una transfusión errónea o de una incompatibilidad feto-materna. Pero también es factible producirla "in vitro", mediante incubación de hematies testigo con anticuerpos incompletos o "bloqueantes" de los grupos sanguíneos. Como el suero donde se presume estén estos anticuerpos "bloqueantes" contiene además otras - proteínas, será necesario eliminar las mismas con lavados diversos en solución salina fisiológica al 0,9 %.

2 - Segunda reacción o "fase de antiglobulina":

Como los lavados sólo restarán las inmunoglobulinas unidas a los receptores de la membrana eritrocitaria. Acto seguido

añadiremos anticuerpos contra las globulinas humanas, obtenido de animales inmunizados, generalmente de conejos; de este modo se unen las globulinas fijadas en la superficie de los eritrocitos, dando lugar a la aglutinación de varios eritrocitos. Es decir, hay una reacción inmunológica específica entre las globulinas fijadas en los eritrocitos y los anticuerpos del antisuero antiglobulina.

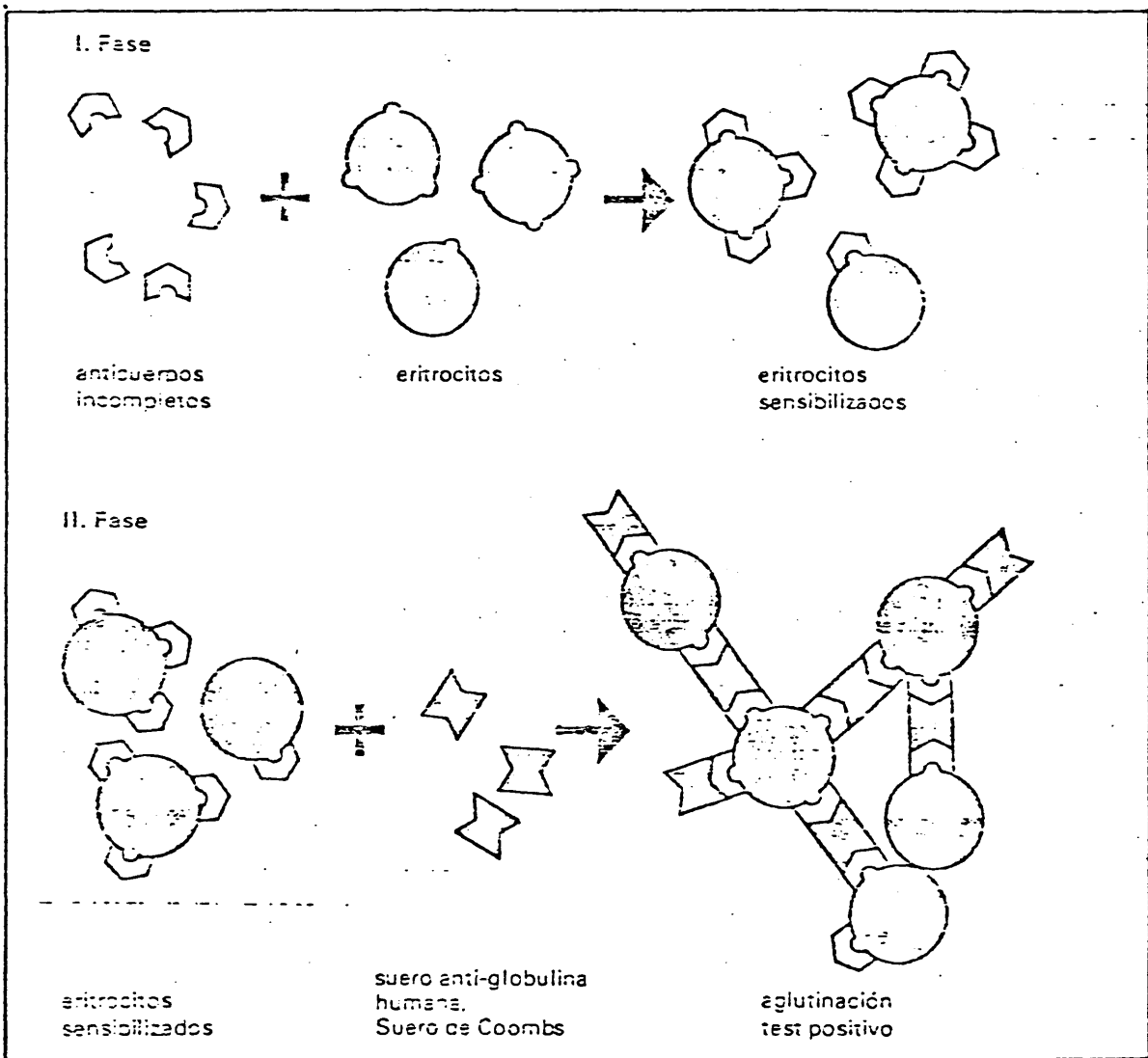


Figura Nº XXII - Representación esquemática de la prueba de Coombs indirecta.

Si al final del proceso hallamos una aglutinación, quiere - ello decir que en las muestras de suero estudiadas se ha detectado un anticuerpo (de anticuerpo) de naturaleza inmune, cuya especificidad debemos identificar obligatoriamente y para tal efecto nos servimos

de un "panel" comercial de hematies de estructura antigénica conocida; estos eritrocitos de control empleados deben disponer de la gama - más amplia posible de aglutinógenos de los grupos sanguíneos descubiertos hasta ahora (cuadro CXXXII).

En suma, la metódica de Laboratorio seguida en la prueba de Coombs indirecta es:

1º - En un tubo de hemolisis se depositan dos gotas del - suero a estudiar.

2º - Añadimos dos gotas de albúmina bovina al 30 %.

3º - Agregamos dos gotas de una mezcla de hematies, que contiene la casi totalidad de los antígenos hoy día conocidos y en - suspensión de solución salina fisiológica al 0,9 %.

4º - Agitamos el tubo de hemolisis y le incubamos a 37°C. , en baño Maria, durante 45 minutos. De este modo queda reproducida la "fase de sensibilización".

5º - Centrifugamos y tras agitar suavemente el sedimento se comprueba si hay aglutinación.

6º - Procederemos a continuación a retirar toda proteína ex traña que pueda distorsionar la "fase antiglobulina". A tal fin suspen demos aquel sedimento de eritrocitos y lavamos tres veces con solu- ción salina fisiológica al 0,9 %.

7º - Después del último lavado tiramos todo el sobrenadante y al sedimento le agregamos dos gotas de antiglobulina de Coombs.

8º - Se deja reposar dos minutos y centrifugamos, en sero- fuga modelo Clay-Adams , a 3.000 r.p.m. durante un minuto.

9º - Por agitación suave del sedimento se comprueba la au- sencia o presencia de aglutinación.

10º - En caso de aglutinación positiva, haremos uso del "pa nel" de identificación específica de anticuerpos.

Las causas de error en la interpretación de la prueba de antiglobulina pueden ser variadas, pero si procedemos con la visión que dá la experiencia, manejamos correctamente las instrucciones anteriormente señaladas ayudados siempre de testigos tanto positivos como negativos y asimismo las muestras a analizar y los reactivos son de garantía, la interpretación de resultados muy rara vez será equívoca. Las falsas positividades pueden deberse a reactivos contaminados, concentraciones erróneas de solución salina fisiológica, formación del "fenómeno de Rouleaux" o que el suero problema contiene anticuerpos aglutinantes. Las reacciones falsamente negativas pueden ser motivadas por falta de actividad de la antiglobulina de Coombs, contaminación bacteriológica, empleo de hematies no "frescos" que inhiben también la actividad del antisuero de globulina, o bien por desproporción cuantitativa entre los antígenos y anticuerpos, ésto es, un "fenómeno de zona" del antisuero de globulina.

B) - Métodos enzimáticos:

El empleo de enzimas proteolíticas se está generalizando últimamente, si bien su descubrimiento data ya cerca de tres décadas. Ahora bien, por las razones que más adelante exponremos, este método se usa como complemento de la prueba de Coombs indirecta.

En el año 1.947 MORTON y cols notaron que los extractos de enzimas de vibrión colérico, o las preparaciones de tripsina del estómago de cerdo, hacían posible la aglutinación de los eritrocitos por anticuerpos "bloqueantes" (Ig. G.). De entonces a hoy se han empleado diversas soluciones enzimáticas durante la sistemática de identificación de anticuerpos. LOW utilizó la papaína, PRIOFSKY la bromelina y MAHER la ficina.

Los métodos enzimáticos son muy sensibles para múltiples anticuerpos, de preferencia del sistema Rh, pero ejercen una función

destructora sobre determinados receptores antigénicos; de aquí que su empleo tenga mucho valor cuando se presume la existencia de anticuerpos anti-Rh asociados a otros cuyo correspondiente antígeno - sea destruído por la acción enzimática.

Los antígenos que son destruídos por las enzimas proteolíticas se representan en el cuadro CXXXI (para mayor detalle remitimos al cuadro III).

<u>Antígenos destruídos:</u>	<u>Sistema :</u>
M N	MNSs
S	MNSs
Fy ^a	Duffy
Fy ^b	Duffy
Sp ₁	Sp/Pr
Pr ₁ , Pr ₂	Sp/Pr
Pr _a	Sp/Pr

Cuadro CXXXI

Las ventajas de estas enzimas, por ejemplo papaina, son varias:

- mayor sensibilidad que la antiglobulina de Coombs para la detección de anticuerpos anti-Rh.
- los anticuerpos del sistema Lewis y P reaccionan mejor con este método que con cualquier otro.
- es el proceder ideal para absorber autoanticuerpos frios.

Pero es que además el período de incubación es corto (cinco minutos a temperatura ambiente o entre 15 y 17 °C.) y puede ir seguido de Coombs.

La ficina y la papaina al actuar sobre la estructura del antígeno de grupo sanguíneo, rompen la cadena peptídica y no modifican la especificidad; el lugar de acción de estas enzimas queda reflejado en la figura XXIII.

Estos fermentos proteolíticos pueden emplearse de dos formas:

- a. - método directo o en una etapa: añadiendo la enzima a una mezcla de suero-hematies.
- b. - método indirecto o en dos etapas: tratando previamente los hematies con solución enzimática y mezclando posteriormente el suero problema con los hematies tratados con enzimas.

Tanto un método como otro pueden convertirse posteriormente en prueba de antiglobulina.

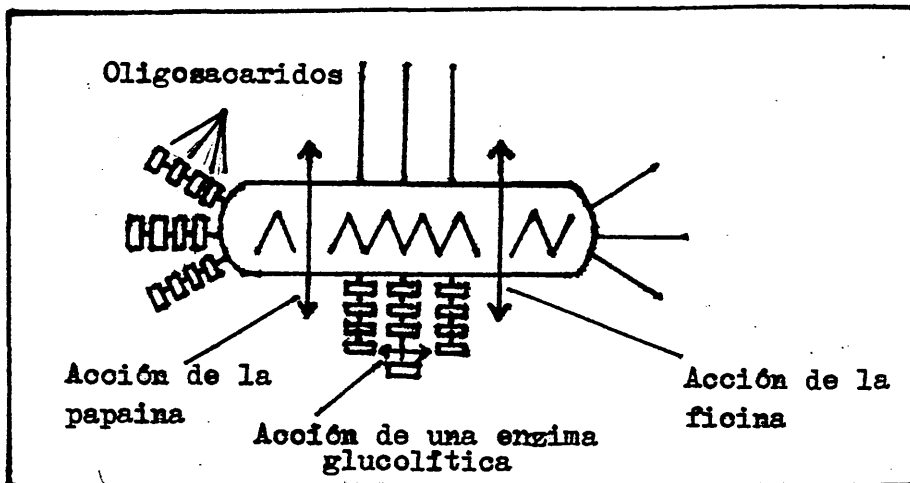


Figura XXIII - Representación esquemática de un antígeno de grupo sanguíneo (según REVIRON).

Sustancialmente, la mecánica general para la aplicación de las enzimas proteolíticas en la búsqueda de anticuerpos irregulares es la que sigue:

- 1º - Colocamos dos gotas de suero en un tubo de hemólisis.
- 2º - Añadimos dos gotas de hematies en suspensión salina

al 2-5 %.

- 3º - Agregamos dos gotas de solución enzimática y mezclamos bien.
- 4º - Incubamos 5 minutos a temperatura ambiente.
- 5º - Centrifugamos, durante un minuto a 1.000 r.p.m. ó 20 segundos a 3.400 r.p.m.
- 6º - Hacemos lectura macroscópica
- 7º - Incubamos 15 minutos a 37 ° C.
- 8º - Volvemos a centrifugar, en las mismas condiciones que en el punto 5º y examinamos macroscópicamente.
- 9º - Se agrega solución salina fisiológica al 0,9 %, para lavar el sedimento eritrocitario y tras centrifugación tiramos el sobrenadante; repetimos esta operación - dos veces más.
- 10º - Al sedimento celular le añadimos dos gotas de anti-globulina humana y lo dejamos reposar dos minutos.
- 11º - Finalmente centrifugamos, en las mismas condiciones que en los puntos 5º y 8º y hacemos lectura macroscópica.

Apréciase, por ende, que a partir del paso 7º la prueba se ha convertido en test de Coombs indirecto.

Nuestra casuística. -

El uso sistemático de los métodos antes consignados en pruebas cruzadas, donantes de sangre e incompatibilidad feto-materna, nos permitió encontrar un total de 229 anticuerpos irregulares, repartidos de la forma que citamos:

I. - Sistema ABO. -

Hallamos 17 casos de anti-A inmune; todos ellos en embarazos.

II. - Sistema Rh. -

Hallamos un total de 181 anticuerpos irregulares con la distribución:

- anti-D: 138 casos (7 en donantes; 19 en enfermos hospitalizados y 112 en embarazadas.)
- anti-D^u: 1 caso (embarazada)
- anti-C: 6 casos (1 donante; 3 enfermos y 2 embarazadas).
- anti-E: 8 casos (2 donantes; 4 enfermos y 2 embarazadas)
- anti-c: 11 casos (1 donante y 10 enfermos).
- anti-C^w: 6 casos (todos en enfermos hospitalizados).
- anti-fracción D: 2 casos (enfermos del Hospital).
- anti-C + D: 7 casos (4 enfermos y 3 embarazadas).
- anti-D + E: 1 caso (en embarazada).
- anti-V: 1 caso (en enfermo)

III. - Sistema Kell Cellano:

Hallamos 11 anticuerpos inmunes así repartidos:

- anti-Kell (anti-K): 8 casos (1 embarazo; 1 donante y 6 enfermos).
- anti-Penney (anti-Kp^a); 2 casos (en embarazadas).
- anti-Sutter (anti-Js^a): 1 caso (en donante).

IV. Sistema Duffy:

Detectamos 4 anticuerpos.

- anti-Fy^a: 3 casos (1 en donante y 2 en enfermos)
- anti-Fy^b: 1 caso (en enfermo)

V. Sistema Lewis

Hallamos un total de 14 anticuerpos.

- anti-Le^a: 7 casos (5 donantes y 2 enfermos)
- anti-Le^b: 7 casos (2 donantes; 4 enfermos y 1 embarazo)

VI - Sistema Lutheran:

- anti-Lu^a : 1 caso (en donante)

VII - Sistema Rh y Kell-Cellano:

- anti-D+Kp^a : 1 caso (en embarazada).

Consecuentemente las frecuencias de aparición de anticuerpos irregulares, según los sistemas sanguíneos a que pertenecen, son:

ANTICUERPOS IRREGULARES DETECTADOS

- sistema ABO	17 casos	7,423 %
- sistema Rh	181 casos	79,039 %
- sistema Kell	11 casos	4,803 %
- sistema Duffy	4 casos	1,746 %
- sistema Lewis	14 casos	6,113 %
- sistema Lutheran	1 caso	0,436 %
- sistema Rh y Kell ...	1 caso	0,436 %
Total	229 casos	99,996 %

Cuadro CXXXIII

El mayor porcentaje se dió, pues, en el sistema Rh, lo cual no es una novedad, y dentro de este sistema el antígeno D y su variante D^u fué responsable del 82,324 % de las inmunizaciones (149 casos incluidos las asociaciones a los antígenos C y E); le siguieron en orden decreciente de frecuencias el antígeno C con un 7,182 % (13 casos y de ellos 7 asociados al antígeno D); el antígeno c provocó el 6,077 % de inmunizaciones; el antígeno E creó el 4,972 % (9 casos; 1 asociado a antígeno D) y el antígeno C^w ocasionó el 3,314 % de los anticuerpos irregulares.

Comentario final.

De todo lo anteriormente expuesto podemos colegir lo siguiente.

El hallazgo cada día más frecuente de anticuerpos irregulares, denota la necesidad de estudiar el mayor número de antígenos de grupo sanguíneo y posponer a un recuerdo de la historia de la transfusión la exclusiva investigación de los aglutinógenos de los sistemas ABO y Rh. Esta meta en la actualidad queda cumplimentada con el enfrentamiento sistemático del suero de todo receptor de sangre a un conjunto de los antígenos públicos más frecuentes ("panel"); pero esta prueba cruzada mayor en ocasiones no es suficiente, toda vez que en los eritrocitos del hemodonante puede estar alojado algún antígeno poco común que no figure en el "panel" y consecuentemente esta sangre será un peligro potencial dadas sus condiciones de posible inmunizante del receptor. Por ello hemos realizado la investigación de los sistemas sanguíneos que plasmamos en esta tesis doctoral. Aún así tenemos que soslayar otro riesgo de la hemoterapia derivado de la presencia en el suero de los donadores de anticuerpos inmunes, que en ocasiones pueden provocar conflictos transfusionales en el receptor.

Gracias a estas determinaciones inmunohematológicas que hemos realizado sistemáticamente, pudimos transfundir, en caso necesario, la sangre adecuada a un gran número de enfermos inmunizados, hacer transfusiones intraútero y exanguinotransfusiones que planteaban grandes problemas de enfermedad hemolítica perinatal, por anticuerpos raros, siendo factible la localización de la sangre indicada en la que estuviera ausente el antígeno o anticuerpo problema.

Las ventajas e inconvenientes de las pruebas descritas, para la detección de anticuerpos irregulares, nos indujeron a emplear una u otra y según las circunstancias simultanear ambas. Así el método enzimático en dos etapas (papaína) nos fué útil para reforzar el anti-V (anti-ce^S), descubierto previamente por prueba de

Coombs indirecta. Desde luego el inconveniente mayor que tiene el emplear únicamente enzimas proteolíticas, es el no desvelar los anticuerpos correspondientes a aquellos antígenos cuyos receptores destruyen (ver cuadro CXXXI). La prueba de la antiglobulina es la más segura para estas determinaciones, pese a requerir más tiempo que ninguna otra; es imprescindible emplear suero fresco, para poder descubrir todos los anticuerpos importantes; su exactitud depende también del tiempo y temperatura de incubación; pero hay que reconocer que esta prueba está más sujeta a errores técnicos que ninguna otra; pero son muy pocos los anticuerpos que pueden manifestarse por otras técnicas y que queden ocultos a la prueba de Coombs indirecta. Por lo mismo abogamos por el uso de dos métodos con el objeto de revelar el mayor número de anticuerpos posibles, pero recordando que los fermentos proteolíticos pueden dar ciertas reacciones positivas inexplicables; así, por caso, si se utiliza papaína es preciso un riguroso control de la intensidad de papainización, a fin de evitar resultados inespecíficamente positivos, por exceso de papaína, o negativos - falsos, por defecto, hecho que podemos salvar con muestras testigo. En suma el método enzimático no debe ser la única técnica empleada, pero es de un gran valor adicional a la prueba de la antiglobulina.

Del análisis del cuadro CXXXIII pueden sacarse diversas conclusiones. Primeramente que, en efecto, los antígenos del sistema Rh continúan siendo los de mayor poder inmunizante; el anticuerpo anti-V, que citamos, apareció en un paciente ingresado en el Hospital, de raza negra, procedente de Guinea Ecuatorial, el cual manifestó le habían transfundido en su país natal; el antígeno V es muy frecuente en aquella raza y parece ser que no es responsable de enfermedad hemolítica perinatal. Siguiendo dentro del sistema Rh, destacamos un caso de enfermedad hemolítica perinatal por antígeno D^u en el recién nacido siendo la madre de genotipo cde/cde. (figura XVIII).

En segundo lugar, llama la atención, proporcionalmente, el elevado número de anticuerpos anti-Lewis; sin embargo, estos anticuerpos no son raros de encontrar y pueden considerarse como anticuerpos naturales, con características serológicas de anticuerpos completos, fríos, pero con una amplitud térmica que llega a los 37 °C.: si bien por ser Ig M. no atraviesan la barrera placentaria, y en consecuencia no deben ser responsables de incompatibilidad feto-materna, pueden ser de actividad hemolítica y ocasionar accidentes pos-transfusionales.

El anticuerpo anti-Lu^a, que a veces es de naturaleza completa y reacciona en solución salina a temperatura ambiente, es casi siempre un anticuerpo adquirido del que sólo en una ocasión se ha hecho responsable de enfermedad hemolítica perinatal. Parece ser que las personas Lu (a-) producen con bastante facilidad el anti-Lu^a cuando son reiteradamente transfundidos con hematies Lu (a+); pero esta posibilidad es inferior al 1 %. En el caso concreto del anticuerpo que nosotros detectamos, se trataba de un donante y para ponerlo de manifiesto tuvimos que recurrir a la prueba de Coombs indirecta.

Pero el ejemplo más infrecuente de los encontrados viene dado por la asociación de anti-D+Kp^a, que descubrimos en una embarazada; ciertamente la probabilidad de que una mujer se inmunice a ambos antígenos es de 1 en 50.000.000, ya que la frecuencia de que una mujer sea Rh-negativo, Kp^b Kp^b, es del 14,70 %, de que se case con un hombre Rh-positivo, Kp^a positivo, es del 14 % y de que la mujer se inmunice a los antígenos D y Kp^a es del 1 por 100.000.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

El trabajo que presentamos sobre "antígenos eritrocitarios de los grupos sanguíneos en la población española", es el compendio de la labor personal que venimos realizando en el Banco de Sangre del Hospital Clínico de San Carlos desde hace cerca de una década; empleamos para ello un colectivo de 76.247 personas y un total de 264.525 determinaciones serológicas. Muchas de estas experiencias fueron llevadas a diferentes Congresos Nacionales Internacionales y otras publicadas en diversas Revistas nacionales y extranjeras.

Los antígenos eritrocitarios de los grupos sanguíneos son elementos biológicos que por sus características se ubican de pleno derecho en múltiples sectores de las ciencias médicas, cuestiones éstas que reflejamos en el capítulo I; pero nuestra intención al desarrollar esta tesis doctoral fué edificarla sobre algunas áreas de aplicación de los citados antígenos: genética, terapéutica (hemoterapia) y medicina legal . . .

De la finalidad propuesta y del análisis de las evidencias obtenidas podemos deducir las siguientes conclusiones:

1º - Señalar, en virtud de la personalidad genética de las razas, las diferencias que existen entre las frecuencias génicas resultantes del estudio de la población nativa española y las observadas en poblaciones enmarcadas en otros países, zonas o regiones sin atavismos españoles.

2º - Hacer notar, en relación con este aspecto, la mayor divergencia del mosaico genético entre los individuos cuanto más lejanas son las fronteras geográficas y étnicas que definen a los sujetos comparados.

3º - Poner de manifiesto la importancia integral de una correcta y exhaustiva mecánica operativa de la Hemoterapia, en la estruc

turación de un Hospital moderno, verificando para tal efecto el examen de otros antígenos distintos de los correspondientes a los sistemas ABO y Rh, así como sus variaciones antigénicas.

4º - Que estos otros antígenos y sus variantes, poco investigadas habitualmente, son para nosotros tan interesantes como los - propios de los sistemas sanguíneos ABO y Rh por permitirnos un mejor conocimiento antigénico de la sangre disponible en el Servicio de Hemoterapia y los posibles problemas de inmunización que - podemos evitar.

5º - Significar el valor que en Medicina Legal representan los referidos antígenos eritrocitarios en pruebas para la investigación de la paternidad civil y biológica.

Creemos haber cubierto nuestro objetivo, pues de forma esquemática podemos exponer:

A) - Para la investigación de la genética demográfica o de poblaciones, cuando se trata de herencia autosómica, es muy útil la ley de HARDEY-WEINBERG; de aquí su uso en la tesis doctoral; - asimismo empleamos las fórmulas de WIENER-VAISBERG para el cálculo de frecuencias génicas; para la comprobación del equilibrio génico en la población analizada aplicamos la determinación de la - probabilidad (p) en dependencia con el concepto de χ^2 ; todos los valores de χ^2 recogidos estaban comprendidos entre probabilidades (p) tales que nos permiten decir que no hay diferencia significativa y que, por ende, las muestras indagadas están en equilibrio genético, pudiendo en consecuencia, aceptar las frecuencias génicas calculadas en nuestro colectivo como representantes de la población española.

Pues bien, las frecuencias génicas halladas por nosotros para cada uno de los genes estudiados se reflejan en el cuadro CXXXIV.

FRECUENCIAS GENICAS EN LA POBLACION ESPAÑOLA (según nuestro trabajo)			
SISTEMA ABO.:			
gen A :	0,286929		
gen B :	0,067089		
gen O :	0,645981		
SISTEMA Rb-Hr.:			
gen D :	0,587864	gen d :	0,412135
gen C :	0,422403	gen c :	0,567596
gen E :	0,154550	gen e :	0,845449
SISTEMA KELL-CELLANO.:			
gen K :	0,038988	gen k :	0,961011
gen Kp ^a :	0,025000	gen Kp ^b :	0,974999
SISTEMA DUFFY.:			
gen Fy ^a :	0,38874		
gen Fy ^b :	0,59126		
gen Fy :	0,02000 (estimada)		
SISTEMA MNSs.:			
gen M :	0,527472	gen N :	0,472527
gen S :	0,323852	gen s :	0,674147

Cuadro CXXXIV

De otro lado, en razón de ese equilibrio, calculamos en cada uno de los sistemas sanguíneos estudiados, la relación de frecuencias para la descendencia conforme los distintos cruzamientos de los genotipos posibles; en los cuadros correspondientes, al final de cada capítulo, pueden apreciarse los resultados obtenidos.

A 1. Los porcentajes observados para el sistema ABO fueron:

- antígeno A: 45,42 %	}	A ₁ : 35,77 %	- antígeno 0: 41,83 %
		A ₂ : 9,64 %	
- antígeno B: 9,14 %	}	A ₁ B: 2,73 %	
		(grupo AB) 3,60 %	A ₂ B: 0,86 %

En los subgrupos raros:

A ₃	:	4 casos	(0,031 %)
A _{e1}	:	1 caso	(0,007 %)
A ₃ B:		1 caso	(0,981 %)

Las frecuencias calculadas para los genotipos y fenotipos del sistema ABO pueden contemplarse en la página 110 (cuadros XXV y XXVI).

Todos estos datos son muy parecidos a los aportados por HOYOS SANZ, CAMPILLO y PICAZO GUILLEN, página 115 (cuadro XXIX), en la población española y próximos a los encontrados por diversos autores en la Europa latina; pero discrepantes con los de DOBSON e IKIN (Inglaterra), MOLLER (Alemania) y LEVINE (U.S. A), los cuales hallan más frecuente el grupo sanguíneo 0 que el A. (cuadro XXIX).

A 2. Las frecuencias observadas de los antígenos que configuran el sistema Rh-Hr fueron:

- antígeno D: 83,29 %;
- antígeno E: 28,61 %;
- antígeno e: 97,70 %.
- antígeno C : 67,89 % ;
- antígeno c : 81,40 % y

Las frecuencias génicas cobraron valores de:

- gen D: 58,78 %;
- gen d: 41,21 %;
- gen C: 43,24 %;
- gen c: 56,75 %;
- gen E: 67,89 %;
- gen e: 84,54 %.

Estos porcentajes son prácticamente los mismos que en Francia. Pero si el estudio comparativo lo realizamos con aborígenes más alejados de España las diferencias son notorias; en la página 205 (cuadro LVII) recogemos las frecuencias de los complejos génicos en diversas naciones y los datos encontrados en nuestra casuística (página 186 : cuadro XLIX); estas divergencias obedecen a la impronta genética de cada población examinada y no a cálculos erróneos pues en todas ellas se comprobó un equilibrio genético; en el mismo cuadro LVII vemos que el orden de frecuencias cromosómicas es igual para las cuatro investigaciones (RACE, WIENER, HEIKEN y nosotros), con la salvedad de la población norteamericana analizada por WIENER, en la cual el complejo génico $r'(Cde)$ es más frecuente que el $r''(cdE)$. Tomando como única referencia el gen D, en Suecia (HEIKEN) está ausente en el 14,59 % de los sujetos, en Inglaterra (RACE) y U.S.A. (WIENER) su falta alcanza, respectivamente, al 16,83 % y 15,25 % de las personas; para nosotros el porcentaje de dd es del 16,71 %. En la página 207 (cuadro LVIII) abundamos en esta divergencia de genética de poblaciones.

En la página 188 (cuadro L) plasmamos las frecuencias calculadas de los genotipos del sistema Rh-Hr en la población española, según nuestra casuística, las cuales creemos son las primeras que se hacen en España.

La variante débil de D (D^u) es doblemente importante por los cuadros de eritroblastosis fetal, así como los serios accidentes transfusionales que puede ocasionar en gestantes o receptores Rh_0

(D) negativos; lo pusimos de manifiesto en el 1,517 % de los sujetos dd investigados (página 194: cuadros LI y LII) de modo que en el fenotipo $r'(Cde)$ lo hallamos en el 31,067% de los fenotipos $r''(cdE)$ el 21,505 % eran en verdad cD^uE y el 0,208 % de los genotipados como cde/cde , eran realmente cD^ue/cde .

Esta variante D^u la encontramos en sus dos versiones, hereditaria y de interacción génica (página 197: figuras XVIII y XIX).

El antígeno C^w lo detectamos en el 2,953 % de los casos en que es posible su presencia, con una distribución del 2,432 % para el fenotipo $R_1^w(C^wDe)$ y del 0,434 % para el fenotipo $R_z^w(C^wDE)$; datos éstos que son intermedios entre los de WIENER y RACE y SANGER e inmersos en la estadística mundial (2 a 3 %), pero diferentes de los porcentajes en lapones y latvios (7 a 9 %): En la página 202 (figura XX) podemos comprobar su inequívoca transmisión hereditaria.

De las otras dos variantes, C^u y E^u , sólo aislamos un posible ejemplo de C^u en el que sería fenotipo C^ucDEe (página 198: cuadro LIII); esto es, en el 0,0438 %; otros autores le dan un valor del 0,2 %.

A 3. Dentro del sistema Kell-Cellano, analizamos los antígenos Kell (K), Cellano (k), Penney (Kp^a) y Rautenberg (Kp^b), siendo las frecuencias observadas:

- | | |
|-----------------------------|---------------------------------|
| - antígeno Kell: 7,55 % ; | - antígeno Cellano: 99,76 %. |
| - antígeno Penney: 4,88 % ; | - antígeno Rautenberg: 99,88 %. |

SANGER y RACE (Inglaterra) dan las frecuencias génicas de:

- | | |
|-----------------|-------------------|
| - gen K: 0,0457 | (nosotros 0,0389) |
| - gen k: 0,9543 | (nosotros 0,9610) |

ALLEN y LEWIS (Boston) para los genes Kp^a y Kp^b dan las frecuencias de:

- gen Kp^a : 0,0114 (nosotros 0,0250)
- gen Kp^b : 0,9886 (nosotros 0,9749)

De estos cálculos el hecho más significativo es el alto valor del gen Kp^a de nuestra casuística, discordante con el de ALLEN y LEWIS y otros autores, circunstancia por la cual al contemplar la equiparación de fenotipos y genotipos del sistema que comentamos en la página 243 (cuadro LXXXIV) hay claras alteraciones de aquellos genotipos que contienen Kp^a y de preferencia en el fenotipo Penney + (K : -1, 2, 3, 4); pero esto no menoscaba el interés del trabajo, pues nos reiteramos en el probado equilibrio genético de la población que hemos examinado.

Pero el acontecimiento más llamativo es el que, aún pendiente de confirmación, encontramos al completar este sistema con los antígenos Sutter (Js^a) y Matthews (Js^b); se trata de un hemodonante (E.G.V.) de raza blanca y sin ascendientes negros cuya sangre contiene el genotipo : K: -1, 2, -3, 4, 6, -7, es decir, ausencia del antígeno Js^b , público en la raza blanca, y presencia del antígeno Js^a , atributo genético de la raza negra.

Las frecuencias observadas y calculadas para los genotipos quedan reflejadas en las páginas 231, 232 y 236 (cuadros LXXI, LXXIII y LXVIII).

A 4. Para los antígenos del sistema Duffy los resultados fueron:

- antígeno Fy^a : 62,67 %.
- antígeno Fy^b : 83,35 % .
- antígeno Fy : 0,000 %.

Las frecuencias observadas y calculadas para los genotipos aparecen en las páginas 260 y 261 (cuadros XCIII y XCIX).

Las frecuencias génicas de Fy^a (0,3887) y Fy^b (0,5912) por nosotros desveladas están dentro del abanico genético que domina en

Europa; ésto es, en lo que WALTER llamaría "mutación hipotética del gen Fy^b "; con esta frase quería decir que el gen Fy^a se habría originado al este de Asia y Australia para de aquí difundirse por Europa y América, en tanto que en Africa y Europa el gen Fy^b predomina sobre el gen Fy^a ; así, en negros liberianos el único gen que se aísla es el gen Fy^b y por contra en aborígenes australianos y polinesios (Islas Cook) el gen Fy^b está ausente.

A 5. En el sistema MNSs las frecuencias fueron:

- antígeno M: 77,63 % ;
- antígeno N: 72,13 %.
- antígeno S: 53,58 % ;
- antígeno s: 89,01 %.

Del antígeno Mg, dada su extrema rareza, no hallamos ningún ejemplo.

Las frecuencias calculadas y observadas para los diferentes genotipos se exhiben en las páginas 294 y 295 (cuadros CXX y CXII) y en la página 303 (cuadro CXXX) desarrollamos las frecuencias de genotipos encontrados por distintos autores, junto a nuestra casuística; en este cuadro se aprecia que el único distanciamiento se dá en el genotipo MMss. Al cotejar los complejos génicos calculados por WALSH y MONTGOMERY, CLEGHORN, CHOWN y nosotros, página 302 (cuadro CXXIX), surgen claras divergencias para los complejos NS y Ns de nuestro estudio.

B) - El hallazgo cada día más frecuente de anticuerpos irregulares denota la necesidad de investigar el mayor número de antígenos de grupo sanguíneo y posponer a un recuerdo de la historia de la transfusión la exclusiva determinación de los aglutinógenos de los sistemas ABO y Rh.

El estudio de estos antígenos eritrocitarios se justifica, pues, asimismo por su poder inmunizante; en el capítulo X, página 315 (cuadro CXXXIII) dejamos constancia cierta de lo que pretendemos explicar.

Los antígenos que componen los sistemas de grupos sanguíneos incluídos en esta tesis, tienen por tanto clara incidencia sensibilizante; así, soslayando los antígenos más conflictivos en este sentido (ABO y Rh), vemos que la forma D^u fué responsable de un caso de inmunización feto-materna (figura XVIII); el antígeno C^w apareció en seis enfermos hospitalizados; el antígeno Kell provocó anticuerpos en once ocasiones, de las cuales hubo dos anti-Kp^a y un anti-Js^a; - etc, etc. Pero quizá lo más notorio fué la asociación de anticuerpos anti-D+Kp^a que descubrimos en una embarazada, circunstancia que según nuestros cálculos viene a darse de 1 en 50.000.000.

C) - Verdaderamente no se sabe quién debe más, si la genética a los grupos sanguíneos o éstos a aquélla; cuestión ésta que ha sido aprovechada por la medicina legal.

Así; de las múltiples consultas que nos han sido requeridas para la investigación de la paternidad, seleccionamos aquella en la cual el antígeno C^w fué de valor decisivo (página 202, figura XX), por ser éste antígeno detectable sólo en el 2-3 % de la población; la madre era C^w negativo y el padre posible e hijo eran C^w positivo, siendo además compatibles en la familia los otros tres sistemas sanguíneos (ABO; MNSs y Duffy) investigados. Otro ejemplo de la trascendencia de estos antígenos en la configuración de la herencia lo abordamos con el árbol genealógico reflejado en la página 197 (figura XIX), donde el "caso propositus" fué un D^u de interacción génica.

Ultimamente se nos planteó la oportunidad de ratificar un caso de legítima paternidad; tal como en la página 328 (cuadro CXXXV) se manifiesta, se trataba de una niña a la que hubo necesidad de hacer una transfusión intraútero; dado que la madre era A_1 Rh negativo (cde/cde), el padre A_1 B Rh positivo (CDe/cDE) y la niña 0 Rh negativo (cde/cde), la Dra. ESCUDERO sugirió la posibilidad, frente a otras posturas, de que el grupo sanguíneo de la hija correspondía a la sangre transfundida, y solicitó nuestra colaboración; desde las primeras pruebas reafirmamos la tesis de la Dra. Escudero pues el -

ESTUDIO DE DIFERENTES ANTIGENOS ERITROCITARIOS
DE GRUPO SANGUINEO

ABO	Rh-Hr	Kell-Cellano	Duffy	Kidd	Lutheran	MNSs	Lewis
Donante intrauterino	O	kkKp ^b Kp ^b Js ^b Js ^b	Fy ^a /Fy ^b	Jk ^a /Jk ^a	Lu ^b /Lu ^b	MS/MS	Le ^a /Le ^a
Hija antes exanguint.	O	kkKp ^b Kp ^b Js ^b Js ^b	Fy ^a /Fy ^b	Jk ^a /Jk ^a	Lu ^b /Lu ^b	MS/MS	Le ^a /Le ^a
Hija (27-XI-77)	O	kkKp ^b Kp ^b Js ^b Js ^b	Fy ^b /Fy ^b	Jk ^b /Jk ^b	Lu ^b /Lu ^b	Ms/Ns	Le ^a /Le ^a
Padre	A ₁ B	kkKp ^b Kp ^b Js ^b Js ^b	Fy ^a /Fy ^a	Jk ^a /Jk ^a	Lu ^b /Lu ^b	MS/MS	Le ^a /Le ^a
Madre	A ₁	kkKp ^b Kp ^b Js ^b Js ^b	Fy ^b /Fy ^b	Jk ^a /Jk ^b	Lu ^b /Lu ^b	Ms/Ns	Le ^a /Le ^a
Hija (21-XI-77)	A ₁ B	kkKp ^b Kp ^b Js ^b Js ^b	Fy ^b /Fy ^b	Jk ^b /Jk ^b	Lu ^b /Lu ^b	Ms/Ns	Le ^a /Le ^a
Hija (29-XII-77)	A B	kkKp ^b Kp ^b Js ^b Js ^b	Fy ^a /Fy ^b	Jk ^a /Jk ^b	Lu ^b /Lu ^b	Ms/Ns	Le ^a /Le ^a

(explicación en el texto)

Cuadro CXXXV

mosaico genético de la sangre del donante y de la niña era idéntico, apareciendo además en los hematies de esta última un gen Le^a , el cual hasta el tercer mes de la vida extrauterina no inicia su desarrollo; se pensó asimismo en la posibilidad de un fenómeno "cis", pero finalmente el grupo sanguíneo de la niña, ABO, Rh y demás estudiados, fué compatible al de los padres.

BIBLIOGRAFIA
=====

- 1.- Aird, I; Bentall, H.H y Roberts, J.A.- "A relation ship between cancer of stomach and the ABO groups". Brit med.J. 799 .- 1.953.
- 2.- Ajsdukiewiko, A.B. y cols.- " The Lancet". Vol. II. nº7.755, 15-4.- 1.971.
- 3.- Albrey, J.A. y cols.- " A new antibody, anti-F₃, in the Duffy blood group system ". Vox Sang, 20, 29.- 1.971.
- 4.- Allen, F.H; Krabbe Sissel, M.R y Corcoran Patricia, A.- "A new phenotype (K₄ Leod) in the Kell blood group system". Vox Sang, 6: 555-560.- 1.961.
- 5.- Allen, F.H y Rosenfield, R.E.- "Notation for the Kell blood group system". Transfusion-Philad. 1: 305-307 .- 1.961.
- 6.- Allen, F.H y Lewis, S.J.- "Kp^a (Penney), a new antigen in Kell blood group system". Vox Sang-Bale. 2: 81.- 1.957.
- 7.- Allen, F.H; Lewis, S.J; Fundenberg, M.- "Studies of the anti-Kp^b, a new antibody in the Kell blood group system". Vox Sang-Bale. 3: 1.- 1.958.
- 8.- Allen, F.H y cols.- "M_g, a new blood group antigen in the MNS system". Vox Sang. 3: 81.- 1.958.
- 9.- Allen, F.H y Tippett, Patricia, A.- "A new Rh blood type which reveals the Rh antigen G". Vox Sang. 3: 321-330.- 1.958.
- 10.- Allen, F.H y Tippett, Patricia, A.- "Blocking tests with the Rh antibody anti-G". Vox Sang (Basel). 6: 429.- 1.961.
- 11.- Allen; Maney, K.- "Manual Hyland de Immunohematologia.- 1.963.
- 12.- Aldysia, M y cols.- "The expected "Bombay" phenotypes O_h^a A₁ and O_h^a A₂". Transfusion-Philad. 1: 212.- 1.961.

- 13.- Alter, A.A; Gelb, A.G; Lee, St.L.- "Hemolytic disease of the newborn caused by a new antibody(anti-Go^a)". Proc. 9th Congr. Inter Soc. Blood. Transfusion. Mexico. 1.962, 341-343.- 1.964.
- 14.- Anderson, L.D; Race, G.J y Owen, M.- "Presence of anti-D antibody in a Rh(D) positive person". Amer. J. Clin. Pathol. 30, 228.- 1.958.
- 15.- Badakere, S.S y Bhatia, H.M.- "Haemolytic disease of the newborn in a —D—/—D— indian". Vox Sang 24:280.- 1.973.
- 16.- Barrero, M.L; Colino, F y Campillo, F.L.- "Un caso de inmunización anti-DD+ anti-Kp^a". Resumen de trabajo. Sangre. Vol 22 (1) 113.- 1.977.
- 17.- Beattie, K.M.; cols.- "G^o, a variant of G". Transfusion, 11:3, 152-156.- 1.971.
- 18.- Becker, P.E; Hemold, W y cols.- "Genética humana: grupos sanguíneos". Tomo I/4. Ed. Toray.- 1.976.
- 19.- Bernard, J y Ruffie, J.- "Hematologie géographique". Masson. Paris.- 1.966.
- 20.- Bezhard, O y cols.- "A new anti-erythrocyte antibody in the Duffy system: anti-Fy₄". Vox Sang 24, 337.- 1.973.
- 21.- Bhatia, H.M y Sanghvi, L.B.- "Rare blood groups and consanguinity: "Bombay" phenotype". Vox Sang 7:245.- 1.962.
- 22.- Bhende, Y.N y cols.- "A 'new' blood-group character related to the ABO system". Lancet i 903-904.- 1.952.
- 23.- Billington, B.P.- "A note on ABO blood distribution in carcinoma of the oesophagus and cardia". Aust. Ann. Med. 6, 216.- 1.957.
- 24.- Bird, G.W.G.- "Observations on haemagglutinin "linkage" in relation to iscoagglutinins and auto-agglutinins". Brit. J. exp. Path. 34:131-137.- 1.953.
- 25.- Bird, G.W.G.- "The hypothetical factor C of the ABO system of blood groups". Vox Sang(O.S) 4:66-68.- 1.954.
- 26.- Bird, G.W.G.- "Specific agglutinating activity for human red blood corpuscles in extracts of Dolichus biflorus". Curr. Sci. 20:298-299.- 1.951.

- 27.- Bird, G.W.G.-"The hemagglutinins of *Crotalia striata*. Furthen evidence of similarity of the A and B agglutinogens". *Vox Sang.* 1:167-171.- 1.956 .
- 28.- Boettcher, B.-"The Rh "deletion" phenotypes and the information they provide about the Rh genes!" *Vox Sang(Basel)* 9,641.- 1.964.
- 29.- Bomchil, G.-"Isoinmunización por el antígeno M. Nueva causa de enfermedad hemolítica neonatal". *Hematología y Hemoterapia.* 3:104.- 1.951.
- 30.- Bowe, J.R. y cols.-"Anti-K^M defining a new antigenic determinant". *Transfusion.* 5,370.- 1.965.
- 31.- Boyd, W.G y Boyd, L.G.-"The blood groups in Pakistan". *Amer. J. phys. Anthropol.* 12:393.- 1.954.
- 32.- Boyd, W.G y Boyd, L.G.-"Bloods grouping tests on 300 mummies". *J. Immunol.* 32:307-319.- 1.937.
- 33.- Boyd, W.G. y Reguera, Rose M.-"Hemagglutinating substances for human cells various plants". *J. Immunol.* 62:333-339.- 1.949.
- 34.- Boyd, W.G.-"Genetics the races of man". Boston. Little. Boston University Press.- 1.958.
- 35.- Brain, P.- "Subgroups of A in the South African Bantu". *Vox Sang* 11:686-698.- 1.966
- 36.- Broman, B y cols.-"The D(C)e gene complex revealed in the Swedish population". *Vox Sang* 8:588-593.- 1.963.
- 37.- Buñuel, C y cols.-"Delección D—/D— con anticuerpos causantes de enfermedad hemolítica grave del recién nacido". *Sangre* Vol.22(4) 492-499.- 1.977.
- 38.- Callender, S.T y Race, R.R.-"A serological and genetical study of multiple antibodies formed in response to blood transfusion by a patient with lupus erythematosus diffusus". *Ann. Eugen. Lond.* 13:102-117.- 1.946.
- 39.- Campillo, F.L; Agustin, P.P y Herraiz, M.P.-"Estudio de la distribución de los grupos sanguíneos del sistema (ABO) y del sistema Rh en los enfermos del Hospital Clínico de San Carlos". *Medicina Tropical.* Marzo-Abril.- 1.962

- 40.- Campillo, F.L.; Gallardo, L.E y Senra, A.- "Grupos sanguíneos ABO y Rh en España". Revista de Sanidad e Higiene Pública. Noviembre.- 1.971.
- 41.- Campillo, F.L.- "Estudio de los grupos sanguíneos en la población española". Anales de la Real Academia Nacional de Medicina, cuaderno 3º. Tomo XCIII.- 1.976.
- 42.- Candela, R.R; Bedford, D y Rouillard, L.M.- "A and B blood group antigens on human epidermal cells demonstrated by mixed agglutination". Lancet i :461-463.- 1.956.
- 43.- Cazal, P; Elliot, J.- "Les groupes sanguins du système Rh". 1 Vol, 217, 3ª Edic. Paris. Expansion Scient.- 1.962
- 44.- Cazal, P; Lalaurie, M.- "Recherches sur quelques agglutinines spécifiques des groupes sanguins ABO". Acta. Haemat. (Basle). 8:73.- 1.952.
- 45.- Cepellini, R; Dunn, L.D; Turi, M.- "On interaction between alleles at the Rh locus in man which weakens the reactivity of the Rh_a(D^u) factor". Proc. Nat. Acad. Sci. 41:238.- 1.955.
- 46.- Cepellini, R y cols.- "La malattia emolitica del neonato". Milan.- 1.952.
- 47.- Cepellini, R.- "L'antigen Rh E^u". Rev. Hematol. 5:285-293.- 1.950.
- 48.- Cepellini, R; Ikin, E, W; Mourant, A. E.- "A new allele of the Rh gene E^u". Boll Ist. Siero. Milan 29:123:124.- 1.950
- 49.- Cepellini, R.- "Identification du chromosome r_y (Cde) dans quatre generations". II. Sangre 24, 157.- 1.951.
- 50.- Cleghorn, T. E.- "The demonstration of the Rh chromosome C^wDE^w". Vox Sang. 5. 171-172.- 1.960.
- 51.- Cleghorn, T. E.- "A memorandum on the Miltenberger blood groups". Vox Sang. 11 :219-222.- 1.966.
- 52.- Cleghorn, T. E.- "Two human blood group antigens St^a (Stones) and Ri^a (Riddley), closely related to the MNSs system". Nature 195, 297.- 1.962.
- 53.- Cohen y cols.- "Blood grupos in infrahuman species". Ann. N. Y. Ac. Sci. 207-328.- 1.962.

- 54.- Colino, F y Campillo, F.L.-"Investigación del antígeno D^u en donantes de sangre". Trabajos de Hematología y Hemoterapia, Vol. X. n.º. 3 : 210-225.- 1.970.
- 55.- Colino, F; Campillo, F.L y Senra, A.-"Variantes antigénicas del sistema Rh". Archivos de la Facultad de Medicina. Madrid. Vol. XXVII, n.º. 1, 43-47.- Enero.- 1.975.
- 56.- Colino, F.- "Nuestra experiencia en el estudio de donantes de sangre con mención especial de las variaciones antigénicas en diferentes sistemas sanguíneos". Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina. Madrid.- 1.974.
- 57.- Colino, F y cols.-"Distribución de los grupos del sistema sanguíneo Duffy en la población española". Sangre. Vol. 22(1). 30-32.- 1.977. European and African Division Fourth Meeting International Society Of Haematology. Estambul. Setiembre.- 1.977.
- 58.- Colino, F y cols.-"Estudio del sistema MNSs en una población de donantes de sangre del Hospital Clínico de San Carlos". Sangre 22(4). 421-425.- 1.977. European and African Division Fourth Meeting International Society of Haematology. Estambul. Setiembre.- 1.977.
- 59.- Colino, F y cols.-" Distribution of K₁, K₂, K₃ and K₄ phenotypes in Spanish blood donors". The XIV Congress of the International Society of Blood Transfusion. Helsinki. Julio-Agosto.- 1.975.
- 60.- Colino, F y cols.-"Inmunización y hepatitis en cirugía con circulación extracorpórea". Medicina Clínica. n.º. 5 Vol 69.- 250-253.- 1.978
- 61.- Collins, J.O; y cols.-"Nine blood group antibodies in a single serum following multiple transfusions". Brit. med. J. 1:1. 297-99.- 1.950.
- 62.- Constantoulakis, M y Kay, H.E.M.-"A and B antigens of the human foetal erythrocyte". Brit J Haem. 8:57-63.- 1.962

- 63.- Coombs,R.R;Bedford,D y Rouillard,L.M.-"A and B blood group antigens on human epidermal cells demonstrated by mixed agglutination".Lancet i: 461-463.- 1.956.
- 64.- Coombs,R.R;Mourant,A.E y Race,R.R.-"A new test for the detection of weak and incomplete Rh agglutinations". Brit.J.Exp.Path. 26,255.- 1.945.
- 65.- Coombs,R.R;Mourant,A.E y Race,R.R.-"In-vivo isosensitization of red cells in babies with haemolytic disease". Lancet i: 264-266.- 1.946.
- 66.- Corcoran,Patricia,A y cols.-"A new antibody,anti-Ku(anti-Peltz) in the Kell blood group system".Transfusion-Philad. 1:181-183.- 1.961.
- 67.- Cordova,M.S;Lisker,R y Loria,A.-"Studies on several genetic hematological traits of the Mexican population".Amer. J.Phys.Anthrop. 26:55.- 1.967.
- 68.- Cregut,R y cols.-"A new rare blood group antigen "FAR", probably linked to the MNSs system".Vox Sang 26:194-198. 1.974.
- 69.- Cutbusch,M;Mollison,P.L y Parkin,D.M.-"A new human blood group"Nature.165,188.- 1.950.
- 70.- Cutbusch,M y Mollison,P.L.-"The Duffy blood group".Heredity. 4, 383.- 1.950.
- 71.- Chalmers,F.N.M y Lawler,Sylvia.-"Data on linkage in man:elliptocytosis and blood groups.I.Families 1 and 2.".Ann Eugen.Lond.17:267-271.- 1.953
- 72.- Charles,F.-"Isoimmunization Rh y Eritroblastosis fetal".- 1.971.
- 73.- Chevallyx,M;Moulllec,J y Bourel,M.-"Iso-immunization anti-Hr'' (anti-e) par transfusion chez une petite fille".Rev. d'Hemat.,3:418-425.- 1.948.
- 74.- Chown,B;Lewis,M y Kaita,H.-"The Rh antigen D^w (Wiel)".Transfusion-Philad.4:169-172.- 1.964.

- 75.- Chown,B;Lewis,M y Kaita,H.-"The Duffy blood group system in Caucasians;evidence for a new alleles".Amer.J. human.Genet.17:384.- 1.965.
- 76.- Chown,B;Lewis,M y Kaita,H.-"A new Kell blood group phenotype".Nature.Lond.180:711.- 1.957 .
- 77.- Chown,B;Lewis,M y colbs.-"On the antigen Go^a and the Rh system". Vox Sang.15:264.- 1.968.
- 78.- Chown,B;Lewis,M y colbs.-" Some blood group frequencies in a Caucasians population".Vox Sang.8:378-381.- 1.963.
- 79.- Chown,B y colbs.- The pedigrees of two people already reported as a phenotype K-,k-,Kp(a- b-)".Vox Sang(Bâsel) 6, 620.- 1.961.
- 80.- Chown,B;Lewis,M y Kaita,H.-"An anomaly of inheritance in the MNSs blood groups".Amer.J.human.Genet.17:9.- 1.965.
- 81.- Chown,B;Lewis,M y Kaita,H.-"A 'new' Rh antigen and antibody". Transfusion-Philad. 2:150-154.- 1.962.
- 82.- Dade Reagents.- "Procedimientos de Banco de Sangre".-1.974.
- 83.- Dausset,J;Malinvaud,G.-"Normal and pathological platelet agglutinins investigated by means of the shakin method". Vox Sang.(O.S). 4 :204-213.- 1.954.
- 84.- Dausset,J.-Presence des antigenes A et B dans les leucocytes decelee par des epreuves d'agglutination".C.r.Soc.Biol. Paris. 148:1607.- 1.954.
- 85.- Dausset,J."Iso-leuco-anticorps".Acta haemat.20:156-166.- 1.958.
- 86.- Deminatte,M;Delmas-Marselet,y colbs.-"Etude du linkage probable en une genodermatose a transmission autosomale dominant et le systeme de groupes sanguins MNSs".Ann.Genet. 11:217-224.- 1.968.
- 87.- De Natale,A y colbs.-" V: a 'new' Rh antigen,common in Negroes, rare in white people".J.Amer.med.Ass.159:247-250.- 1.955.

- 88.- Diamond, L.K y Abelson, N.M.- "The importance of Rh inhibitor substance in anti-Rh serums". *J.Clin.Invest.* 24:122.-1.945.
- 89.- Diamond, L.K.- "Physiochemical and immunological characteristics of Rh antibodies". *International Hematology and Rh Conferene*. Dallas 1.946 (Datos no publicados).
- 90.- Dichura, P.J; Anderson, Catherine y Chown, B.- "A further search for hypothetical K_p^b of the Kell system". *Vox Sang.*-1.968.
- 91.- Dobson Aileen, M e Ikin Elizabeth.- "The ABO groups in the United Kingdom; frequencies based on a very large sample". *J.Path.Bact.* 48:221-227.- 1.946.
- 92.- Documenta Geigy.- "Tablas científicas".- Séptima Edición.
- 93.- Dodd Barbara, E.- "Linked anti-A and anti-B antibodies from group O sera". *Brit.J.Exp.Path.* 33:1-18.- 1.952.
- 94.- Ducos, J; Broussy, J y Ruffie, J.- "Mise en evidence des antigenes M et N dans les plaquetes sanguines humaines". *Rew.Hemat.* 14, 156.- 1.959.
- 95.- Dudley, A; Fox, J.C y Sherlock.- *The Lancet*, ii. 579.- 1.970.
- 96.- Dujarric de la Riviere y Eyguem .-"Les groupes sanguins de les animaux". Flammarion. Paris.- 1.965.
- 97.- Dunsford, I.- "A saline agglutinating, Kell antibody". *Nature (Lond)*. 163: 192.- 1.949.
- 98.- Dunsford, I; Ikin, E, W y Mourant, A.E.- "A human blood group gene intermediate between M and N". *Nature (Lond)*. 172:688-689. 1.953.
- 99.- Dunsford, I.- "A blood lacking the expected k antigen". *Vox Sang* 4: 148.- 1.959.
- 100.- Dunsford, I; Aspinall, P.- "The Rh chromosome $C^W dE (R^W)_Y$ occuring in three generations". *Nature (Lond)*. 168:954-955.- 1.951.
- 101.- Dunsford, I.- "A new Rh antibody -anti-CE". *Proc. 8 th Cong. Europ. Soc. Haemat. Viena. Trabajo nº 491.*- 1.961.
- 102.- Dunsford, I.- "Homozygous $D^u (D^u/D^u)$ cell in a family of rare Rhesus genotypes". *Ann. Eugen. (Lond)*. 17, 283.- 1.953.
- 103.- Dupont, Madeleine.- "Contribution a l'estude des antigenes des globules rouges". *Arch.int.Med.Exp.* 9:133-167.- 1.934.

- 104.- Economidou Joanna; Hughes-Jones, N.C y Gardner, B. - "Quantitative measurements concerning A and B antigen sites".
Vox Sang 12:321-328.- 1.967.
- 105.- El-Hefnawi, H y colbs. - "Xeroderma pigmentosum its inheritance and relationship to the ABO blood-group system". Ann. hum. Genet. 28:273-290.- 1.965.
- 106.- Elosegui, C y Hors, P. - "Sistema Kell y Duffy". Trabajos de Hematologia y Hemoterapia. 1:76.- 1.951.
- 107.- Ellis, F.R. - "Observaciones no publicadas (1.961). Citado por Race y Sanger en "Blood groups in man". 6ª Ed. p.211.- 1.975.
- 108.- Epstein, A.A y Ottenberg, R. - "Simple method of performing serum reactions". Proc. N. York. Pathol. Soc. 8:117-123.- 1.908.
- 109.- Fasquelle, R; Barbier, P y colbs. - "Elementos de inmunologia general". - 1.968.
- 110.- Filitti-Wurmser, Sabine y colbs. - "Blood group determinations of Peruvian Mummies". Proc. imp. Acad. Japan. 35:305-306.- 1.959.
- 111.- Fisher, R.A y Race, R.R. - "Rh gene frequencies in Britain". Nature Lond. 157:48.- 1.946.
- 112.- Fisher, R.A. - "The Rhesus factor: a study in scientific method". Am. Scien. 35:95-103.- 1.947.
- 113.- Fisk, R.T y Foord, A.G. - "Observations on the Rh agglutinin of human blood". Amer. J. Clin. Path. 12:545.- 1.942.
- 114.- Fitch, W.M y Neel, J.V. - "The phylogenetic relationships of some Indian tribes of Central and South America". Amer. J. human. genet. 21:384.- 1.969.
- 115.- Francis, B y Hatcher, D.E. - "MN blood types, the S-s-V₄ and the M, phenotypes". Vox Sang. 11:213-216.- 1.966.
- 116.- Friesleben, E. - "Fetal hemolytic transfusion reaction due to anti-Fy^a (Duffy)". Acta Path. microbiol. Scand. 19-283.- 1.951.
- 117.- Friesleben, E y Jensen, K.G. - "Haemolytic disease of the newborn caused by Anti-M". Vox Sang (Basel). 6:328.- 1.961.
- 118.- Furuhashi, T y colbs. - "Blood group determinations of Peruvian Mummies". - Proc. imp. Acad. Japan. 35:305-306.- 1.959.

- 119.- FuruHata, T; Okajima, M; Schimizu, S.-"Blood group determinations of eight hundred years old mummies of Governor-Generals in four generations at Chusonji". Proc. imp. Acad. Japan. 26:78-80.- 1.950.
- 120.- Furuhelm, U; Nevanlinna, H. R y cols.-"Evidence that the antigen U1^a is controled from the Kell co-mplex locus". Vox Sang. 16:496-499.- 1.969.
- 121.- Geczy, A.-"A case history of a haemolytic disease of the newborn due to anti-Fy^a". Vox Sang (Basel). 5. 551.- 1.960
- 122.- Gedde-Dahl, T y cols.-"A probable crossing-over or mutation in the MNSs blood group system". Acta. gentic (Basel). 17, 193.- 1.967.
- 123.- Geiger, J y Wiener, A. S.-"An Rh₀ positive mother with serum containing potent Rh antibodies, apparently of specificity anti-Rh₀, causing erythroblastosis fetalis". Proc. 6 th. Congr. Int. Soc. Blood. Transfusion. 36-40.- 1.958.
- 124.- Giblett, E. R.-"Js^a, a 'new' blood group antigen found in Negroes". Nature (London). 181, 1221,- 1.958.
- 125.- Giblett, E; Chase, J y Crealock, F. W.-"Hemolytic disease of the newborn resulting from anti-s antibody". Amer. J. Clinic. Path. 29, 254.- 1.958.
- 126.- Giles, C. M; Darnborough, J y cols.-"Identification of the first example of anti-Co^b". Brit. J. Haemat. 19-267.- 1.970.
- 127.- Giles, C. M; Crosslance, J. D y cols.-"An Rh gene complex which results in 'new' antigen detectable by a specific antibody anti-Rh 33". Vox Sang. 21-289.- 1.971.
- 128.- Gold, E. R y cols.-"Changes in the group A antigen in case of leukaemia". Nature. (Lond). 183:892-893.- 1.959.
- E29.- Gote Iturriaga.-"Gaceta mdica del Norte". Junid.- 1.967
- 130.- Goumenard, M y Delmas-Marselet.-"Elements d'immuno-hematologie". Flammarion Medicine-Sciences. Ed. 3*. Paris.- 1.-974.

- 131.- Goumenard, M; Delamas-Marselet, Y y Tippett.- "Un nouvel exemple de genotype rhesus cD/cD ". Revis. Frano. Transfusion. 12:233.- 1.969.
- 132.- Grabor, P y Burton, P.- "Immunolectroforesis". Ed. Toray-Mason. S.A.- 1.968.
- 133.- Gras, J.- "Proteinas plasmáticas". -Ed. Jims. Barcelona.- 1.961.
- 134.- Greenwelt, T.J; Walker, R.H y colbs.- " J_s^b of the Sutter blood group system". Proc. 9 th. Congr. Int. Soc. Blood. Transfusion.- Méjico. 1.962.- 235-237.- 1.964.
- 135.- Greenwelt, T.J; Sasaki, T y colbs.- "An allele of the $S(s)$ blood group genes". Proc. Nat. Acad. Sci. 40:1126.- 1.954.
- 136.- Greenwelt, T.J; Sasaki, T y colbs.- " S^u an allele of the S and s". Proc. VI. Cong. Int. Soc. Blood Group. 104.- 1.958.
- 137.- Gripta, S.- "ABO blood-groups and their relationship with cancer of the cervix uteri". J. ind. med. Ass. 51, 69.- 1.968.
- 138.- Gripta, S.R y colbs.- "The study ABO blood groups and relationship with acnr vulgaris". Indian. J. Derm. Venerol. 12, 63.- 1.967.
- 139.- Gripta, S.R y Gripta, M.C.- "Relationship between azoospermia and blood groups". Indian. Practit. 339.- 1.965.
- 140.- Guevin, R; Taliano, V y Waldam, O.- "The Coté serum, an antibody defining a new variant in the Kell system". Progr. 24. th. Ann. Meet. Amer. ASS.- Blood Bankes, p.100 (Resumen).
- 141.- Gunson, H.H y Donohue, W.L.- "The blood genotype $C^wD - /C^wD -$ ". Proc. 6 th. Congr. Int. Soc. Blood. Transf. 123-126.- 1.958.
- 142.- Gurevith, J y Nielken, D.- "ABO blood group in blood platelets". Nature. Lond. 173-356.- 1.954.
- 143.- Gurevith, J y Nelken, D.- "ABO group in blood platelets". J. Lab. Clin. Med. 44:562-570.- 1.954.
- 144.- Gurevith, J y Nelken, D.- "Studies on platelet antigens. II. A_{II} and A_2 sub-groups in blood platelets". J. Lab. Clin. Med. 46-530-533.- 1.955.
- 145.- Haber, G.U y colbs.- "Rh null and pregnancy complicated by maternal anti-"total Rh". anti-Rh 29 (RH)". Transfusion. 7, 389.- 1.967.

- 146.- Haberman, S y cols.-"The demonstration and characterization of the anti- δ agglutinin predicted by Fisher and Race". Blood, 3, 682.- 1.948.
- 147.- Hackel, E.-"Elution of anti-U from SS and ss cells," Vox Sang(Basel) 3, 92.- 1.958.
- 148.- Haddock, D.R y Mc.Connell.-"Carcinoma of stomach and ABO blood groups". Lancet. 146.- 1.956. II.
- 149.- Hakim, S.A. y cols.-"Eleven cases of "Bombay" phenotype in six families: suppression of ABO antigen demonstrated in two families". Transfusion. 1:218.- 1.961.
- 150.- Heiken, A y Giles Carolyn, M.-"On the Rh gene complex D⁻, D(C)c and d(o)e". Hereditas, Lond. 53:171-186.- 1.965.
- 151.- Heisto, H; Guevin, R y cols.-"Three further antigen-antibody specificities associated with the Kell blood group system". Vox San. 24-179.- 1.973.
- 152.- Heremans, J.-"Les globulines seriques du systeme gamma". Ed. Arscia. Bruselas.- 1.960.
- 153.- Hill, J.M y Haberman, S.-"Two examples of sera containing the anti- δ agglutinin predicted by Fisher and Race". Nature, Lond. 161, 688.- 1.948.
- 154.- Hill, C.L; Rowe, S.I y Lourien, E.W.-"Probable genetic linkage between human serum amylase(Amy₂) and Duffy blood group". Nature. 235.- 1.972.
- 155.- Huestis, D.W y cols.-"A second example of the antibody anti-Js^b of the Sutter blood group system". Transf. Philad. 3. 260.- 1.963.
- 156.- Huggins.- "Transfusion".- 1.963.
- 157.- Hughes-Jones, Brigitte Gardner y Lincoln, P.J.-"Observations of the number of available c, D and E antigen sites on red cells." Vox Sang, 21:210.- 1.971.
- 158.- Huriez, C y cols.-"Linkage autosomal entre une nouvelle entite clinique, le genodermatose scleroatrophiante et

- keratodermique des extremités y le systeme sanguin
MNSs".Ann.Genet.= 1.968.
- 159.- Ikin,E.W;Mourant,A.E.-"Discovery of the expected haemagglu-
tinin anti-Fy^b (Fy^b). "Nature, 168. 1077.- 1.951.
- 160.- Ikin,E.W;Mourant,A.E.-"A rare blood group antigen occurring
in Negroes".Brit.Med.Journ,i.456-457.- 1.951..
- 161.- Ikin,E.W y colbs.-"The distribution of the A₁A₂BO blood
groups in England".Ann.Eugen.Lond.9:409-411.-1.39.
- 162.- Issitt,P.D;Haber,J.M y Allen,F.H,Jr.-"Tm and Sj,two "new"
blood-group antigens in the MN system".Prog.Amer.
Ass.Blood Bankes,p87.- 1.966.
- 163.- Jack,J.A y colbs.-"M₁,a subdivision of the human blood-
group antigen M".Nature.186-642.- 1.960.
- 164.- Jankowski,T.L y colbs.-"Another example of anti-Js^a".Trans-
fusion-Philad.2 :423-424.- 1.962.
- 165.- Jensen,K.G.- "Haemolytic disease of the newborn caused by
anti-Kp^a".Vox Sang. 7:476-478.- 1.962.-
- 166.- Johnson,R.H;Ikin,E.W y Mourant,A.E.-"Blood groups of the
Ait Haddidu Berbers of Marrocco".Human Biol. 35-514.-
1.963.
- 167.- Jouvenceaux,A.-"Conception genetique actuelle du systeme Rh".
Actes de Ia VII^a.Cong.Natio.Transf.Sang.-Rev.Fran.
Transf.Suppl.- 1.969.
- 168.- Kabat,E.A.-"The blood group sustances".Ac.Press.Inc.Publis-
hers,p. 267.N.York.- 1.956.
- 169.- Kaita Huoko;Lewis Marion y colbs.-"A further example of the
Kell blood group phenotype K-,k-,Kp(a- b-)".Nature.
Lond. 183:1586.- 1.959.
- 170.- Katherine,I y colbs.-"Anti-Fy⁵,antibody desclosing a probable
association between and Duffy blood group system".Vox
Sang.24-193.- 1.973.

- 171.- Keith, Priscilla y cols.-"A new antibody; anti-Rh(27)(cE) in the Rh blood group system". *Vox Sang*, 10:528-535.- 1.965.
- 172.- Kliman, A y cols.-"Survival of chromium labelled red cells in the presence of anti-H anti-A₁". *Transfusion* 1:40.- 1.961.
- 173.- Koeckert, H.L.-"A study of the mechanism of human isohemagglutination". *J. Immun.* 5:529-537.- 1.920.
- 174.- Konugres, A.A; Brown, L.S y Corcoran, P.A.-"Anti-Mi^A, and the phenotype M^AN, of the MN blood-group system (A new finding)". *Vox Sang*, 11:189.-193.- 1.966.
- 175.- Kornstand, L y Øyen, R.-"An Rh gene complex producing weak c and E antigens". *Vox Sang*, 13:417-422, and *Nordisk Med.* 77:326.- 1.967.
- 176.- Kornstand, L.-"Distribution of the blood groups of the Norwegian Lapps". *Amer. J. phys. Anthropol.* 36:257.- 1.972.
- 177.- Landsteiner, K y Levine, P.-"Further observations on individual differences of human blood". *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 24:941-942.- 1.927.
- 178.- Landsteiner, K y Levine, P.-"On the inheritance and racial distribution of agglutinable properties of human blood". *J. Immun.* 18:87:94.- 1.930.
- 179.- Landsteiner, K y Levine, P.-"On individual differences in human blood". *J. exp. Med.* 47:757-775.- 1.928.
- 180.- Landsteiner, K y Levine, P.-"On the racial distribution of some agglutinable structures of human blood". *J. Immun.* 16:123-131.- 1.929.
- 181.- Landsteiner, K y Levine, P.-"A new agglutinable factor differentiating individual human blood". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 24:600-602.- 1.927.
- 182.- Landsteiner, K y Levine, P.-"On the inheritance of agglutinogens of human blood demonstrable by immune agglutinins". *J. Exp. Med.* 48:731-749.- 1.928.

- 183.- Landsteiner, K; Strutton, W. R y Chase, M. W.-"An agglutination reaction observed with some human bloods, chiefly among Negroes". *J. Inmun.* 27:469-472.- 1.934.
- 184.- Landstenier, K y Levine, P.-"Differiation of a type human blood by means of normal animal serum". *J. Inmun.* 18:87-94.- 1.930.
- 185.- Landsteiner, K y Wiener, A. S.-"An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for Rhesus blood". *Proc. Soc. Exp. Bio. Med.* 43:223.- 1.940.
- 186.- Landsteiner, K y Wiener, A. S.-"Studies on an agglutigen (Rh) in human blood reacting with anti-Rhesus sera with human isoantibodies". *J. Exo. Med.* 74:309-320.- 1.941.
- 187.- Lain Entralgo, P.-"Historia Universal de la Medicina". Ed. Salvat.- 1.973.
- 188.- Lauer, A.-"Die Veverbungsweise im Rh-system". *Blut.* 10-99.- 1.964.
- 189.- Lawler, Sylvia, D y Sandler, M.-"Data on linkage in man: elliptocytosis and blood groups. IV. Families, 5, 6 and 7.". *Ann. Eugen. Lond.* 18:328-334.- 1.954.
- 190.- Lawler, Sylvia, D y Loghem, J, J, von.-"The Rhesus antigen C^w causing haemolytic disease of the newborn". *Lancet.* ii:545.- 1.947.
- 191.- Lawler, Sylvia, D; Marshall, Ruth y Shatwell Helen, S.-"Trisomy and titrations with particular references to the MN system". *Vox Sang.* 9:455-462.- 1.964.
- 192.- Layrisse, M y Layrisse, Zulay.-"Frequency of the new blood group antigen Js^a among South American Indians". *Mature. Lond.* 184:640.- 1.959.
- 193.- Layrisse, M; Areens, T y Dominguez-Sinco, R.-"Nuevo grupo sanguineo encontrado en descendientes de indios". *Acta Medica. Venezuela.* 3. 132.- 1.955.

- 194.- Layrisse, M y cols.-"New Rh phenotype D_{ce}^{ii} found in Chibcha Indian tribe". Nature, Lond. 191:503-504.- 1.961.
- 195.- Ledesma, D.A.-"Estadística médica". Ed. Universitaria de B. Aires.- 1.972.
- 196.- Levine, P y cols.-"A second example of antibody anti-Fy^b". Blood. 10, 941.- 1.955.
- 197.- Levine, P y cols.-"A new human hereditary blood property (Cellano) present in 99,80 % del bloods". Science. 109:464-466.- 1.953.
- 198.- Levine, P y cols.-"Isoimmunization by a new blood factor intermor cells". Proc. Soc. Exp. Med. Biol. 77:403-405.- 1.951.
- 199.- Levine, P y cols.-"A new blood factor, s, allelic to S." Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 78:218.- 1.951.
- 200.- Levine, P y Setson, R.E.-"An unusual case of intragroup agglutination". J.A.M.A. 113:126-127.- 1.939.
- 201.- Levine, P y Cellano, M.-"A "D"-like antigen in Rhesus red blood cells and in Rh-positive and Rh-negative red cells". Science. 133:332-333.- 1.961.
- 202.- Levine, P y cols.-"Haemolytic disease of the newborn probably due to anti-f". Nature. Lond. 185:188-189.- 1.960.
- 203.- Levine, P; Rosenfield, R.E y White Jane.-"The first example of the Rh phenotype $r^G r^G$ ". Amer. J. hum. Genet. 13:299-305.- 1.961.
- 204.- Levine, P y cols.-"The first human blood, - - - / - - -, wich lacks the "D-like" antigen". Nature, Lond. 194:304-305.- 1.962.
- 205.- Lewis, M; Macpherson, C.R y Gayton Janice.-"The Rh complex $R_{II}^{II}(CD^{We})$ ". Can. J. Genet. Cytol. 7:259-261.- 1.965.

- 206.- Lewis, M; Kaita, H y Chown, B.-"The blood groups of a Japanese population". Amer. J. human, genet. 9 : 274.- 1.957.
- 207.- Lewis, M y cols.-"Failure to find hypotetic K^a (KKp^a) of the Kell blood group system". Vox Sang. (Basel). 5. 565.- 1.960.
- 208.- Loghem, J, J, von; Dorfmeier Hanny y Hart Mia, v. d.-"Two antigens with abnormal serologic properties. Vox Sang, 2: 16-24.- 1.957.
- 209.- Loghem, J. J, von.-"Production of Rh agglutinins anti-C and anti-E by artificial immunization of volunted donors". Brit. med. J. 2: 958-959.- 1.947.
- 210.- Marin, F.-"Transfusiones de sangre y plasma".-Prensa Médica Mejicana. 2ª. Ed..
- 211.- Marsh, W. L; Stroup, M; Macilroy, M y cols.-"A new antibody, anti- K_{12} , associated with the Kell blood group system". Vox Sang. 24-200.- 1.973.
- 212.- Marsh, W. L.-"Studies on the Kell blood group system". Med. Lab. Technology. 32, 1-18.- 1.975.
- 213.- Marsh, W. L y cols.-"Anti- K_{13} and the K:-13 phenotype". Vox Sang. 26: 34-40.- 1.974.
- 214.- Marsh, W, L y cols.-"Studies of MNSsU antigen activity on leukocytes and platelets". Transf. Vol. 14. nº. 5. p 462-466.- 1.975.
- 215.- Medina Aguilar, R.-"El Banco de Sangre". Prensa Médica Mejicana.
- 216.- Mennoier, M.-"Individualisation d' une Nouvelle Entité; le genodermatose scleroatrophiante et keratodermique des extremités frequemment degenerative. Etude Clinique et Genetique (Posibilite de linkage avec le systeme MNSs). Tesis doctoral. Univ. Lille. p 163.- 1.967.

- 217.- Metaxas, M.N.; Metaxas-Buhler, M e Ikin, E.W.-"Complexités of the MN locus". Vox Sang. 15, 102.- 1.968.
- 218.- Metaxas, M y cols.-"Frequency of the Mg blood group antigen in Swiss blood donors and its inheritance in several independent families". Proc. 9 th. Cong. Int. Soc. Blood. Transf. v. 1.962.-206-209.- 1.964.
- 219.- Metaxas, M.N y Metaxas-Buhler, M.-" M^K and apparently silent allele at the MN locus". Nature. Lond. 202:1123.- 1.964.
- 220.- Metaxas, M.N y Metaxas-Buhler, M.-"An Rh gene complex which produces weak α antigens in a mother and her son". Vox Sang. 6:136-141.- 1.961.
- 221.- Mia v. der Hart; Szaloky, A y Loghem, J.J.von.-"A new antibody associated with the Kell blood group system". Vox Sang. 15-456.- 1.968.
- 222.- Mia v. der Hart y cols.-"Vr, an antigen belonging to the MNSs blood-group system". Vox Sang. 3:261-265.- 1.958.
- 223.- Mohr, J.F y cols.-"On the relationship of the blood group antigen Mi^B and V_w to the MNSs system". Amer. J. Human. Genet. 10:276.- 1.958.
- 224.- Mohr, J.F.-"Genetics of fourteen marker systems: associations and linkage relations". Act. Genet. (Basel). 16.- 1.966.
- 225.- Mollison, P.L.; Mourant, A.E y Race, R.R.-"Los grupos sanguíneos Rh y sus efectos clínicos". Ed. C. Médica. Barcelona.- 1.950.
- 226.- Mollison, P.L.-"Blood transfusion in clinical medicine". Oxford.- 1.967.
- 227.- Mollison, P.L.; Cutbush, M.-"La maladie hémolytique chez un enfant D^{u1} ". Rev. Hemat. 4:608-612.- 1.949.
- 227.- Moores, P.; Botha, M.C y Brink, S.-"An anti-N in a serum of a healthy type MN person- a further example". Amer. J. Clin. Pathol. 54:90.- 1.970.

- 228.- Morgan, P; Bosson Edith, L.- "Naturally occurring anti-Kell (K_1): two examples". Transfusion-Philad. 3:397-398.- 1.963.
- 229.- Morgan, W.T; Heyningen Ruth, van.- "The occurrence of A, B and O blood group substances in pseudo-mucinous ovarian cyst fluids". Brt. J. exp. Path. 25:5-15.- 1.944.
- 230.- Morton, N.E; Krieger, H y cols.- "Genetic evidence confirming the localization of Sutter in the Kell blood-group system". Vox Sang. 10:608-613.- 1.965.
- 231.- Morton, N.E.- "The detection and estimation of linkage between the genes for elliptocytosis and the Rh blood type". Amer. J. humn. Genet. 8:80-96.- 1.956.
- 232.- Moullec, J.- "Le systeme Rh". Nouv. Rev. Franc. Hemat. 5, 159.- 1.965.
- 233.- Moureau, P.- "Contribution a l'etude des facteurs d'individualisation du sang humain et leur applications en medicine legale". 2^a memoria. Les groupes M et N d'hemocoagulation de Landsteiner et Levine". Rev. belge. Sci. med. 7: 540-588.- 1.935.
- 234.- Moureau, P y Andre, A.- "Presence des antigenes A et B dans les plaquettes". Vox Sang (O.S) .4 :46-51.- 1.954.
- 235.- Mourant, A.E.- "The distribution of the human blood groups". Blackwell. Oxdord.- 1.954.
- 236.- Mourant, A.E.- "The ABO blood groups". Blackwell. Sci. Pub. Oxford.- 1.958.
- 237.- Mourant, A.E.- "A new Rhesus antibody". Nature. Lond. 155 ,452.- 1.945.
- 238.- Moya, J.- "Los grupos sanguineos del sistema Kell y Duffy en los vascos".- 1.970.
- 239.- Mueller-Eckhart, Ch.- "Serlogia de los grupos sanguineos". Editado por L. Hoechst-Behring.- 1.974.
- 240.- Murray, Knox y Walcker.- "Vox. Sang. 10:257.- 1.965.

- 241.- Murray, J.-"Rh antenatal testing: A suggested nomenclature".
Lancet.ii :594.- 1.944.
- 242.- Murray, J.-"A nomenclature of subgroups of the Rh factor".
Nature.Lond. 154-701.- 1.944.
- 243.- Murray, J y Clark, E.C.-"Production of anti-Rh in Guinea pigs
from human erythrocytes". Nature, Lond. 169:886-887.-
1.952.
- 244.- Muschel, L.H y Osawa, E.-"Human blood group substance B in Es-
cherichia coli O₈₆". Proc. Soc. Exp. Biol. N. York. 101:
614-617.- 1.959.
- 245.- Nelken, D; Gurevith, J y Neuman, Z.-"A and B antigens in the hu-
man epidermis". J. Clin. Investig. 36:749-751.- 1.957.
- 246.- Nelken, E y cols.-"ABO antigens in the human cornea". Nature
Lond. 177:840.- 1.956.
- 247.- Nelken, E y cols.-"Studies on antigens in the human cornea
and relationship to corneal grafting in man". J. Lab.
Clin. Med. 49:745-752.- 1.957.
- 248.- Nunn, H. D; Giles, C.M y Dormandy, K.M.-"A second example of
anti-Ku in a patient who has the rare Kell phenoty-
pe, K⁰". Vox Sang. 11, 611.- 1966.
- 249.- Oriol Bosch, A.-"Inmunología básica e inmunopatología: Bio-
química de las inmunoglobulinas". Monografía Iiade.
nº. 11.- 1.969.
- 250.- O'Riordan, J, P y cols.-"The Rh gene complex cdE^u". Vox Sang.
7:14-21.- 1.969.
- 251.- Ortho Diagnostics.-"Antigenos y anticuerpos de los grupos
sanguíneos en los sistemas ABO y Rh".- 1.972.
- 252.- Plancy, Collin de.-"Diccionario infernal". Barcelona.- 1.968.
- 253.- Plaut, Gertrude y cols.-"A new example of the Rh antibody
anti-C^x". Brit. med. J. i: 1215-1217.- 1.958.
- 254.- Prokop, O.-"Studies on the excretion of antibodies in saliva".
Cong. Leg. Med. Viena.- 1.961.

- 255.- Prokop, O.-"Grupos sanguineos humanos".Ed.C-Medica.- 1.970.
- 256.- Picazo Guillen, J.-"Teoria y práctica de la transfusión sanguinea".- 1.953.
- 257.- Race, R.R y Sanger, R.-"Blood Groups in Man".Oxford.-1.968.
- 258.- Race, R.R y Sanger, R.-"Los grupos sanguineos humanos".1ª.Ed. Méjico, 1.952.(Prensa Med, Mejicana). 2ª.Ed.- 1.975.
- 259.- Race, R.R y Sanger, R.-"Quantitative aspects of the blood group antigen Fy^a".Ann.Eugen.17:225.- 1.953.
- 260.- Race, R.R y Sanger, R.-"The inheritance of blood groups". Brit.Med.Bull.15:99.- 1.959.
- 261.- Race, R.R y Sanger, R.-"The Rh antigen C^u".Heredity.5:285-287.- 1.951.
- 262.- Race, R.R; Holt, H.A y Thompson, J.S.-"The inheritance and distribution of the Duffy blood groups".Heredity. 5, 103. 1.951.
- 263.- Race, R.R y cols.-"The Rh antigen C^u called, a revocation". Vox Sang.5: 334-336.- 1.960.
- 264.- Race, R.R; Sanger, R y Lawler, Sylvia, D.-"The Rh antigen D^u". Ann.Eugen.Lond.14:171-184.- 1.948.
- 265.- Race, R.R; Sanger, R y Lawler Sylvia, D.-"Rh genes allelomorphic to D".Nature.Lond.162-192.- 1.948.
- 266.- Race, R.R; Sanger, R y Lawler Sylvia, D.-"Rh genes allelomorphic to C".Nature,Lond.161-316.- 1.948.
- 267.- Race, R.R y Taylor, G.L.-"A serum that discloses the genotypes of some Rh-positive people".Nature,Lond.152,300.- 1.943.
- 268.- Race, R.R y cols.-"Recognition of Rh genotypes in man". Nature.Lond.152: 563-564.- 1.944.
- 269.- Race, R.R.-"The Rh genotypes and Fisher's theory".Blood, 3, sup.2, 27-42.- 1.948.
- 270.- Race, R.R; Mourant, A.E y Mc.Farlane, M.N.-"Travaux recents sur les antigenes et anticorps Rh avec un etude par-

- ticulaire la theorie de Fisher".Rev.Hemat.I.
9.- 1.946.
- 271.- Rapley Sandra,E y colbs.-"Data on the incidence segregation and linkage relations of the adenylate kinase(AK) polimorphism".Ann.Human.Genet.31:227-242.- 1.968.
- 272.- Rasmuson,M y Heicken,A.-"Frequency of occurrence of the human Rh complexes D(C)(e), d(c)(e), D - - and - - -".Nature.Lond.212:1377-1379.- 1.966.
- 273.- Read,H.C y colbs.-"New examples of D - - /D - -".Vox Sang. 6: 362.- 1.961.
- 274.- Renton,P.H y Stratton,F.-"Rhesus type D^u".Ann.Eugen.Lond. 15:189-209.- 1.950.
- 275.- Rentonen,K.O.-"Studies on hemagglutinins present in seeds of some representatives of the family of leguminosae".Ann.Med.exp.Fenn.26:66-72.- 1.948.
- 276.- Renwick,J.H y Lawler Sylvia,D.-"Linkage between the ABO and nail-patella loci".Ann.Human.Genetic.Lond.19:312-331. 1.955.
- 277.- Renwick,J.H y Lawler Sylvia,D.-"Probable linkage between a congenital cataracted locus and the Duffy blood group locus".Ann.Human.Genet.27:67-84.- 1.963.
- 278.- Reviron,J.-"Points de vue actuels par le systeme ABO".Act. VII.Congr.Nat.Trans.Sang.Rev.Fr.Transf.Suppl.- 1.969.
- 279.- Rivera Bandres,J.-"Transfusion de sangre".- 1.967.
- 280.- Roed,J.J.von y Eernisse,J.G.-"The detection of transplantation antigens in leukocytes".Semin.Hem:5:187.- 1.968.
- 281.- Ros,J.-"Polimorfismo de los antigenos eritrocitarios Duffy en una muestra de población española".Memoria de Licenciatura.Fac.Ciencias.Univ.Barcelona.- 1.972.
- 282.- Rosenfield,R.E y colbs.-"A 'new' Rh antibody,anti-f".Brit. med.J.i:975.- 1.953

- 283.- Rosenfield, R.E y Haber Gladys, V.-"An Rh blood factor, rhi(Ce), and its relationship to hr(ce)". Amer. J. Human. Genet. 10:474-480.- 1.958.
- 284.- Rosenfield, R.E y cols.-"Problems in Rh typing as revealed by a single negro family". Amer. J. Human. Genet. 12:147-159.- 1.960.
- 285.- Rosenfield, R.E. y cols.-"A review of Rh serology and presentation of a new terminology". Philad. 2:287-312. 1.962.
- 286.- Rowe, D, S.-"Inmunoglobulinas". Inmunología. III. Revisión Tri-buna Médica. Año II, nº.5.- 1.971.
- 287.- Sanger, R; Race, R, R y Jack, J.-"The Duffy blood groups of New York negroes: the phenotype Fy(a- b-)". Brit. J. Haemat. 1, 370.- 1.950.
- 288.- Sanger, R; Race, R. R.-" Subdivisions of the MN blood groups in man". Nature, Lond. 160:505.- 1.947.
- 289.- Sanger, R y Race, R, R.-"The MNSs blood group system". Amer. J. Human. Genet. 3:332-343.- 1.951.
- 290.- Sanger, R.-"An unusual Rh chromosome combination". Nature, Lond. 165:655.- 1.949.
- 291.- Sanger, R. y cols.-"An Rh antibody specific for V and R'^s". Nature, Lond. 186:171.- 1.960.
- 292.- Sanger, R y cols.-"An antibody which subdivides the human MN blood groups". Heredity. 2:131-139.- 1.948.
- 293.- Sanger, R. y cols.-"Les groupes sanguins humains Kell; fréquences géniques et recherches génétiques". Rev. Haem. 4:32.- 1.949.
- 294.- Sanger, R. y cols.-"The combination of blood groups in a sample of 250 people". Ann. Eugen, Lond. 15, 77-90.- 1.949.
- 295.- Semar, S.A.-"Documentación Científica de Laboratorio: "Inmunología".- 1.973.

- 296.- Seghak, V.N y Dube, B.-"ABO blood groups and vitiligo". J. Med. Genet. 5. 308.- 1.968.
- 297.- Seyfried Halina; Walewska Irena y Werblinska Bogulsawa.- "Unusual inheritance of ABO group in a family with weak B antigens". Vox Sang. 9:268-277.- 1.964.
- 298.- Shaw, D.H y Stone, W.H.-"Seasonal variation of natural occurring isocantibodies of man". Transf. 6 th. Cong. Europ. Soc. Hemat. 724-732.- 1.957.
- 299.- Simonin, C.-"Medicina-Legal Judicial". Ed. Jims. Barcelona. p:492-506.- 1.973.
- 300.- Simmons, R.T; Garydon, J.J y Semple, N.M.-"A blood group genetical survey in Australian Aborigens". Amer. Phys. Anthropol. 12:599.- 1.954.
- 301.- Simmons, R.T y N.A.F, Young.-"The rare Kell blood group K-, k-, Kp(a- b-) or Ko with anti-Ku antibody found in an Australian woman". Med. J. Aust. 2-1040.- 1.968.
- 302.- Scott, J.M.-"Defibrination syndrome in abruptio placentae and ABO blood type". J. Obstet. Gynea. Brit. Cwth. 76.- 1.969.
- 303.- Speiser, P; Mukerts, D y Pausch, V.-"Interchange of Babies and other errors from the Serologist's point of view". Ann. Paediat. 205, 401.- 1.965.
- 304.- Spielmann, W.-"Técnicas de las transfusiones sanguíneas".- 1.968.
- 305.- Springer, G.F; Tegtmeyer, H y Juprikar, S.V.-"Anti-N reagents in elucidation of the genetical bases of human blood group MN specificities". Vox Sang. 22-325.- 1.972.
- 306.- Springer, G.F.-"Inhibition of blood-group agglutinins by substances occurring in plants". J. Immunol. 76:399-407.- 1.956.
- 307.- Springer, G.F.-"Relation of microbes to blood-group active substances". Angew. Chem. Inter. Edit. 5: 909-920.- 1.966.
- 308.- Springer, G.F; Williamson, P; Brandes, W.C.-"Blood group activity of gram-negative bacteria". J. exp. Med. 113:1077-1093. 1.961.

- 309.- Springer, G.F.; Horton, R.E y Forbes, M.-"Origen of anti-human blood group B agglutinins in white Leghorn chicks". J.Exp.Med. 110:221-244.- 1.959.
- 310.- Springer, G.F.-"Relation of blood group active plant substances to human blood groups" Acta.Haem.20:147-155. 1.958.
- 311.- Stone, B; Marsh, W.-"Haemolytic disease by the newborn caused by anti-M". Brit, J.Haem.5:344.- 1.959.
- 312.- Strange, J.J; Kenworthy, R.J y cols.-"WK^a (Weeks), a new antigen in the Kell blood group system". Vox Sang.27: 81-86.- 1.974.
- 312.- Stratton, F.-"A new Rh allelomorph". Nature, Lond.158-25.- 1.946.
- 313.- Stratton, F y Renton, P.H.-"Rh genes allelomorphic to D". Nature, Lond.162:293-292.- 1.948.
- 314.- Stratton, F y Renton, P.H.-"Haemolytic disease of the newborn caused by a new Rh antibody, anti-C^X". Brit.med.J.i: 962-965.- 1.954.
- 315.- Stroup, M y Macilory, M.-"Evolution of albumin antiglobulin technia in anti-body detection". Transf.V.S.nº 2.- 1.965.
- 316.- Stroup, M; Macilory, M y cols.-"Evidence that Sutter belong to the Kell blood group system". Transf.Philad.5 :309-314.- 1.965.
- 317.- Sturgeon, P.-"The Rh₀ variant D^u. Its frequency in a mixed population". Transf.2:234.- 1.962.
- 318.- Sturgeon, P.-"Studies on relation of anti-rh^N(Cⁿ) to the Rh blood factor rhi(Ce)". J.forens, Sci,5:287-293.- 1.960.
- 319.- Susman, L.N.-"Titration and scoring in disputed parentage". Transf.5, 248.- 1.965.
- 320.- Tegoli, J y cols.-"Another example of a naturally occurring anti-K₁". Vox Sang.12:305-309.- 1.967

- 321.- Thomposon, R.A. "Inmunoglobulinas y enfermedad". *Medecine*.
19-21.- 1.975.
- 322.- Thomposon, P.R; Childers, D.M y Hatcher, D.E. "Anti-D^C, first
and second example". *Vox Sang (Bâle)* 13, 314.- 1.967.
- 323.- Tippett, Patricia. "Serological study of the inheritance
of inusual Rh and other blood group phenotypes".
Tesis. Univ. Londres.- 1.963.
- 324.- Tippett, P y Sanger, R. "Observations on subdivisions of
the Rh antigen D". *Vox Sang.* 7:9-13.- 1.962.
- 325.- Tippett, Patricia y cols. "An Rh gene complex, r^M, in so-
me ways like r^G". *Vox Sang.* 6:21-33.- 1.961.
- 326.- Toral Rosa, E y Salazar, M.M. "Estudio inmunológico de res-
tos oseos antiguos". *Gac. Med. Mejicana.* 81:122-128.
1.951.
- 327.- Unger, L.J. "A family pedigree showing the transmission of
rare and "new" Rh-Hr genes". *Transf.* 4:173.- 1.964.
- 328.- Unger, L.J; Wiener, A.S y Wiener, L. "New antibody (anti-Rh^B)
resulting from blood transfusion in an Rh-positive
patient". *J. Amer. Méd. Ass.* 17:1380-1383.- 1.953.
- 329.- Unger, L.J; Wiener, A.S y Katz, L. "Studies on blood factors
Rh^A, Rh^B and Rh^C". *J. exp. Med.* 110:495-510.- 1.959.
- 330.- Vos, G.H y Kirk, R.L. "A 'naturally occurring' anti-E wich
distinguishes a variant of the E antigen in Aus-
tralian Aborigines". *Vox. Sang.* 7:22-32.- 1.962.
- 331.- Walker, R.H; Argall, C y cols. "Js^b of the Sutter blood
group system". *Transfusion, Philad.* 3:94-99.- 1.963.
- 332.- Walker, R.H y cols. "Anti-Js^b the expected antithetical an-
tibody of the Sutter blood group system". *Nature.*
Lond. 197:295-296.- 1.963.
- 333.- Walsh, R.J y Montgomery, C.A. "A new antibody human in sub-
dividing the MN blood groups". *Nature, Lond.* 160:504.-
1.947.

- 334.- Watkins Winifred, M.-"Gene enzyme relationships on the A, B, H, and Le blood group genes". Transfusion, Philad. 7:367 (Abstracto).-1.967.
- 335.- Wiener, A. S y Sonn-Gordon Eve, B.-"Reaction transfusionnelle hemolytique ~~intra~~-groupe due a un hemmagglutinogene jusqu'ici non decrit". Rev. Hemat. 2:1-10.- 1.947
- 336.- Wiener, A. S; Brancato, G. S y Waltman, R.-"Observations on isosensitization th the Kell factor". J. Lab. Clin. Med. 42. 570.- 1.953.
- 337.- Wiener, A. S y Wexler, I. B.-"Heredity of the blood groups". Grune y Stratton. N. York.- 1.958.
- 338.- Wiener, A. S; Unger, L. J y Gordon, E. B.-"Fatal hemolytic transfusion reaction caused by sensitization to a new blood factor V". J. A. M. A. 153:1444.- 1.953.
- 339.- Wiener, A. S; Unger, L. J y Cohen, L.-"Distribution and heredity pf blood factor V." Science. 119:734.- 1.954.
- 340.- Wiener, A. S y Vaisberg, M.-"Heredity of the agglutinogens M y N of Landsteiner and Levine". J. Immunol. 20:371-388.- 1.931.
- 341.- Wiener, A. S y Rosenfield, R. E.-"M^C, a blood factor common to the antigenic properties M and He". J. Immunol. 87:376.- 1.961.
- 342.- Wiener, A. S.-"The blood factor C of the A-B-O system, with special reference to the rare blood group C". Ann. Eugen, Lond. 18:1.- 1.953.
- 343.- Wiener, A. S.-"Heredity of blood groups, agglutinogens and blood factor; nomclature". Medical. Proc. Vol. 10, n^o 26:559-573.- 1.964.
- 344.- Wiener, A. S; Geiger, J y Gordon Eve, B.-"Mosaic nature of the Rh₀ factor of human blood". Exp. Med. Surg. 15:75-82.- 1.957.
- 345.- Wiener, A. S y Unger, L. J.-"Further observations on the blood factors Rh^A, Rh^B, Rh^C and Rh^D". Transfusion, Philad. 2:230-233.- 1.962.

- 346.- Wiener, A.S.-"Distribution and heredity of the Rh types".
Science, 198-182.- 1.943.
- 347.- Wiener, A.S.-"Heredity and nomenclature of the Rh-Hr blood
types". Bull. Org. mond. Santé. 3. 265.- 1.950
- 348.- Wiener, A.S.-"The Rh series of allelic genes". Science, 100,
595.- 1.944.
- 349.- Wiener, A.S.; Unger, L.J y Sacks, M.S.-"Rh-Hr blood types, pre-
sents status". J.A.M.A. 172:1158.- 1.960.
- 350.- Williamson, P y Springer, G.F.-"Blood group B actual somatic
antigen of E. coli O₈₆". "B7"^x. Fed. Proc. 18:604.- 1.959.
- 351.- Won, C, D y cols.-"Distribution of hereditary blood factors
among koreans residing in Seoul, Korea." Amer. J. phys.
Anthrop. 18. 115.- 1.960.
- 352.- Yokoyama, M; Stacey, S.M y Duhsford, I.-"B_x -a new subgroup of the
blood group B". Vox Sang. 2:348-356.- 1.957.
- 353.- Yomaguchi, H; Okubo, Y y Hazama, F.-"An A₂B₃ phenotype blood
showing atypical mode of inheritance". Proc. imp. Acad.
Japan. 41:316-320.- 1.965.
- 354.- Yunis, J.J y Yunis, E.-"Cell antigens and cell specialization.
IV. On the H blood group antigen of human platelet
and nucleated cells of the human bone marrow". Blood.
24:531-541.- 1.964.
- 355.- Yunis, E y Yunis, J.J.-"Cell antigen and cell specialization.
III. On the H antigen receptors of human epidermal
cells." Blood. 22:750-756.- 1.963.
- 356.- Yutaka Matsukura.-"Distribución del antígeno H en los eri-
troцитos humanos". Transfusion. Vol. 17. 1:321-331.-
1.977.

.....
.....
.....
.....

I N D I C E:
=====

	<u>Págs:</u>
Introducción	1.
CAPITULO I :	
Areas de aplicación de los antígenos de:	
grupo sanguíneo :	4.
En genética	5.
En terapéutica	6.
En patología	7.
En medicina-legal	8.
En antropología	9.
CAPITULO II :	
Historia de la Hemoterapia :	10.
La sangre en la edad antigua y moderna	10.
Las primeras transfusiones de animales a hombres..	14.
Descubrimiento de los antígenos eritrocitarios de grupo sanguíneo	15.
Transfusión con sangre estabilizada y nuevas directrices	16.
Situación presente de la Hemoterapia en España ...	17.
CAPITULO III :	
Cronología de los antígenos eritrocitarios y anticuerpos de grupo sanguíneo	20.
CAPITULO IV :	
Material, métodos y fundamentos para la determina- ción de grupos sanguíneos :	26.

Sistemática inmunohematológica en nuestro estudio	26.
Material; instrumental; elementos biológicos ...	28.
Métodos y fundamentos	34.
Características y naturaleza de los anticuerpos empleados	36.

CAPITULO V :

Sistema sanguíneo ABO :

Descripción del sistema	42.
Nomenclatura; antígenos y anticuerpos	44.
Grupos, subgrupos y variantes del sistema ABO .	57.
Concepto de "donante universal"	66.
Genética y herencia en el sistema ABO	69.
Composición y estructura química de los antígenos A , B y H	83.
Sistema ABO y las enfermedades	88.
Su distribución geográfica	92.
Material y métodos de Laboratorio	95.
Nuestra casuística	101.
Comentario final	112.

CAPITULO VI :

Sistema sanguíneo Rh-Hr :

Descripción del sistema	116.
Nomenclatura; antígenos y anticuerpos	119.
Genética y herencia del sistema Rh-Hr	151.
Sistema Rh y las enfermedades	164.
Distribución geográfica del sistema Rh	164.
Material y métodos de Laboratorio	167.
Nuestra casuística	176.
Comentario final	204.

CAPITULO VII :

Sistema sanguíneo Kell-Cellano :

Descripción del sistema	211.
Nomenclatura;antígenos y anticuerpos	213.
Genética	218.
Sistema Kell-Cellano y las enfermedades	224.
Su distribución geográfica	224.
Material y métodos de Laboratorio	227.
Nuestra casuística	230.
Comentario final	239.

CAPITULO VIII :

Sistema sanguíneo Duffy :

Descripción del sistema	245.
Nomenclatura;antígenos y anticuerpos	246.
Genética	249.
Sistema Duffy y las enfermedades	250.
Su distribución geográfica	250.
Material y métodos de Laboratorio	257.
Nuestra casuística	259.
Comentario final	267.

CAPITULO IX :

Sistema sanguíneo MNSs :

Descripción del sistema	269.
Nomenclatura;antígenos y anticuerpos	271.
Genética	279.
Sistema MNSs y las enfermedades	287.
Su distribución geográfica	287.
Material y métodos de Laboratorio	288.
Nuestra casuística	291.
Comentario final	302.

CAPITULO X :

Anticuerpos irregulares :

Su transcendencia en la transfusión sanguínea	304.
Métodos para su detección	305.
Nuestra casuística	313.
Comentario final	316
Resumen y conclusiones	319.
Bibliografía	330.
Indice	358.

INDICE DE ERRATAS :

Página 68.- Línea 2 .

- dice : " cuando el título de anticuerpos..."
- debe decir : "cuando el receptor no es secretor,
o cuando el título de anticuerpos."

Página 104.- Fórmula (2)

$$\frac{\sqrt{O + B} - \sqrt{O}}{\sqrt{O + A} - \sqrt{O}}$$

- dice : $\frac{\sqrt{O + B} - \sqrt{O}}{\sqrt{O + A} - \sqrt{O}}$,

- debe decir : $\frac{\sqrt{O + B} - \sqrt{O}}{\sqrt{O + A} - \sqrt{O + B} - \sqrt{O}}$,

Página 213.- Línea 15 .

- dice : "esto kk"
- debe decir : " esto es kk"

Página ~~213~~ - Línea 12 .

- dice : "en los eritrinks"
- debe decir : "en los eritrocitos"

Página 249.- Línea 12.

- dice : "regulares de los antígenos"
- debe decir : "reguladores de los antígenos"

Página 269.- Línea 15 .

- dice : "cuando aún sólo aún sólo"
- debe decir : " cuando aún sólo"

Página 275- Línea 20-21 .

- dice : " asocia con M E
- debe decir : " asociado con M "

Página 281.- Línea 8 (del cuadro CVI) .

- dice : " L^M/L^N "
- debe decir : " L^M/L^N "

Página 285.- Línea 2 .

- dice : "datos tomados WALSH y MONTGOMERY"
- debe decir : "datos tomados de WALSH y MONTGOMERY"

Página 305.- Línea 5 .

- dice : "razones de tipo y economía"
- debe decir : "razones de tiempo y economía"

Página 307.- Línea 9 .

- dice : "un anticuerpo de anticuerpo de naturaleza"
- debe decir : "un anticuerpo de naturaleza"

Página 333.- Referencia 42.

- dice : Candela;R,R;Bedford,D y Rouillard,L.M.-
" A and B blood group antigens.....".
- debe decir: Candela,P.B.-"Blood group reactions
in ancient human skeletons".Amer.J.Phys.
Anthrop. 21:429-432.- 1.936.

Página 338.- Referencia 110 .

- dice : Filitti-Wurmser,Sabine y cols.- "Blood
group determinations of "
- debe decir : Filitti-Wurmser,Sabine y cols.-
"Physico-chemical study of human isohaemagglutination".Ann Eugen.Lond. 18:183-302.-
1.954.

APÉNDICE :

RESUMEN TESIS DOCTORAL

Para lograr la casuística que aportamos en la presente tesis sobre "antígenos eritrocitarios de los grupos sanguíneos en la población española", fueron necesarias un total de 264.525 determinaciones serológicas empleando para tal efecto un colectivo de 76.247 personas, de ambos sexos, sin discriminación de edad, exclusivamente españolas y no emparentadas entre sí, salvo en estudios intrafamiliares de interés para nuestro objetivo y en ésta circunstancia valoramos sólo el "caso propositus".

El trabajo ofrece, entre otros, diferentes capítulos dedicados al examen de los sistemas ABO, Rh-Hr, Kell-Cellano, Duffy y MNSs; en los mismos, después de una abundante revisión y puesta al día, exponemos los resultados de nuestra casuística, sirviéndonos para ello de la ley del equilibrio de HARDEY-WEINBERG (cuadro CXXXVI) y del concepto de χ^2 , así como de las fórmulas de DOBSON e IKIN y WIENER y VAISBERG.

En verdad, muchas de las experiencias aquí reflejadas han sido presentadas o publicadas por nosotros en Congresos y Revistas Nacionales e Internacionales y algunas de las mismas nos hemos permitido referirlas en la bibliografía del trabajo. Se trata, en suma, del compendio de la labor personal que venimos ejercitando en el Banco de Sangre del Hospital Clínico de San Carlos desde hace cerca de una década.

Los antígenos eritrocitarios que estudiamos conllevan, como elementos biológicos que son, datos de gran importancia en múltiples facetas de las ciencias médicas, cuestión que abordamos en el capítulo I; pero para edificar la tesis que mostramos, hemos tomado como columna vertebral únicamente sus aplicaciones en genética de poblaciones, hemoterapia y medicina-legal.

De la finalidad propuesta y del análisis de las evidencias podemos deducir las siguientes conclusiones:

1º.- Afirmar, en virtud de la personalidad genética de las razas, las diferencias que existen entre las frecuencias génicas resultantes del estudio de la población nativa española y las observadas en poblaciones enmarcadas en otros países, zonas o regiones sin atavismos españoles, siendo mayor la diver

INVESTIGACION GENETICO-DEMOGRAFICA

a.- Ley del equilibrio de HARDEY-WEINBERG :

Establece el equilibrio genético de poblaciones, cuando se trata de herencia autosómica, en virtud de la constancia génica a lo largo de las generaciones, apoyándose en el desarrollo matemático del binomio :

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1 .$$

siendo p y q genes en equilibrio genético .

b.- Cálculo de las frecuencias génicas :

-fórmulas de DOBSON e IKIN y FRASER ROBERTS :
sistema ABO .

-fórmulas de WIENER y VAISBERG :
restantes sistemas .

c.- Método de PEARSON : determinación de la probabilidad (p) en dependencia del concepto de χ^2 :

c-1.-
$$\chi^2 = \frac{(O - C)^2}{C}$$

siendo O = valor absoluto de las frecuencias observadas en los genotipos, y

C = valor absoluto de las frecuencias calculadas en los genotipos.

c-2.- Si una frecuencia absoluta, en las muestras observadas, tiene un valor inferior a 5, se aplica el método de corrección de YATES :

$$\chi^2 = \frac{O - C}{C} = \begin{cases} \frac{(+D - 0,5)^2}{C} \\ \frac{(-D + 0,5)^2}{C} \end{cases}$$

siendo D la diferencia entre O y C .

gencia del mosaico genético entre individuos, cuanto más lejanas son las fronteras geográficas y étnicas que definen a los sujetos comparados.

En efecto, partiendo del probado equilibrio genético existente en las muestras analizadas, mediante el método de PEARSON, para la determinación de la probabilidad (p) en dependencia del comentado concepto de χ^2 , señalamos lo que sigue:

a) Las frecuencias génicas en la población española son las que se plasman en la página 321 (cuadro CXXXIV).

b) Tomando como modelos los sistemas Rh-Hr, páginas 205 y 207 (cuadros LVII y LVIII) y MNSs, página 298 (cuadro CXXVII), ratificamos las diferentes improntas génicas en las poblaciones cotejadas.

c) Algunas de las estadísticas recogidas en nuestra investigación, son la primera vez que se han hecho en España; verbigracia: las frecuencias de los 36 genotipos Rh-Hr resultantes de la combinación de los seis genes principales (página 188, cuadro L) o de las variantes antigénicas del mismo sistema (páginas 194, 198 y 201, cuadros LII, LIII y LV), así como las frecuencias de los genes Kp^a y Kp^b o de los complejos génicos del sistema MNSs (página 298, cuadro CXXVII). Desde luego, en la casi totalidad de los antígenos estudiados, proporcionamos la más elevada casuística realizada en el territorio nacional.

d) Asimismo en todos los sistemas sanguíneos analizados, exponemos la distribución de frecuencias calculadas en los genotipos para la descendencia, según cruzamientos paternos; sirva como ejemplo de este hecho la página 108 (cuadro XXIII), referida al sistema ABO.

2º.- Poner de manifiesto la importancia integral de una correcta y exhaustiva Hemoterapia en la estructuración de un Hospital moderno, verificando para tal efecto el examen de otros antígenos distintos de los que configuran los sistemas ABO y Rh-Hr, así como sus variantes antigénicas, los cuales, habitualmente poco considerados, representan para nosotros tanta transcendencia como los propios de los sistemas ABO y Rh-Hr por permitirnos un mejor conocimiento antigénico de la sangre disponible en el servicio de Hemoterapia y los posibles problemas de inmunización que podemos evitar.

Que los antígenos incluidos en la tesis tienen clara

incidencia sensibilizante no ofrece dudas y prueba de ello son los ejemplos que mencionamos en nuestra casuística sobre incompatibilidad feto-materna a la forma D^u (página 197, figura XVIII) y al antígeno Kp^a (cuadro CXXXVII) o inmunizaciones postransfusionales debidas a antígenos C^w o Js^a (Sutter); quizá la más llamativa fué la ocasionada por la asociación de anticuerpos anti- $D + Kp^a$ que descubrimos en una embarazada, circunstancia que según nuestros cálculos viene a darse de 1 en 50.000.000.

La perfecta clasificación de los hemodonantes y enfermos dentro de los grupos sanguíneos examinados nos permitió hacer una Hemoterapia con el menor peligro inmunológico e incluso atender demandas de sangre, sin contenido de un antígeno determinado, que nos formularon otros Centros de Transfusión.

3º.- Significar el valor que en Medicina-Legal representan los referidos grupos sanguíneos en pruebas para la investigación de la paternidad civil y biológica y en criminología. Cubrimos ésta finalidad dejando constancia, en varios árboles genealógicos confeccionados por nosotros en el curso de investigaciones de este tipo, de la importancia que los antígenos eritrocitarios pueden tener con este objetivo. En este sentido las variantes poco comunes, entiéndase C^w , D^u , Mg , etc., son de valor inapreciable; en el trabajo reseñamos algunos estudios de paternidad en los cuales esas variantes tuvieron participación definitiva (página 202, figura XX); en ocasiones, como el caso de la figura XX, cuatro sistemas sanguíneos son suficientes, pero en gran número de ocasiones se precisa de un amplio abanico de sistemas antigénicos (página 328, cuadro CXXXV).

En síntesis, nuestra tesis ratifica las diferencias genéticas entre las razas humanas, las frecuencias de los antígenos eritrocitarios de grupo sanguíneo en la población española, la transcendencia inmunológica de una correcta Hemoterapia y la importante aplicación de los sistemas sanguíneos en Medicina-Legal.

ANTICUERPOS INMUNES

SISTEMA	CASOS	ANTICUERPO	FRECUENCIA
ABO	17	anti-A	7,423 %
Rh-Hr	181	anti-D (138) anti-D ^u (1) anti-C (6) anti-E (8) anti-c (11) anti-C ^w (6) anti-fracción D (2) anti-C+D (7) anti-D+E (1) anti-V (1)	79,039 %
Kell-Cellano	11	anti-K (6) anti-Kp ^a (2) anti-Js ^a (1)	4,803 %
Duffy	4	anti-Fy ^a (3) anti-Fy ^b (1)	1,746 %
Lewis	14	anti-Le ^a (7) anti-Le ^b (7)	6,113 %
Lutheran	1	anti-Lu ^a	0,436 %
Rh y Kell	1	anti-D+Kp ^a	0,436 %
Total	229		99,996 %