

## ALOINMUNIZACION A UN ANTIGENO DEL SISTEMA RH DE ALTA FRECUENCIA

CARLOS COTORRUELO<sup>1</sup>, CLAUDIA BIONDI<sup>1</sup>, SILVIA GARCIA BORRAS<sup>1</sup>,  
LILIANA RACCA<sup>1</sup>, DANIEL BRUNETTI<sup>2</sup>, RENE DI MONACO<sup>3</sup>, AMELIA RACCA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunohematología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas,  
Universidad Nacional de Rosario; <sup>2</sup>Servicio de Medicina Transfusional; <sup>3</sup>Servicio de Obstetricia,  
Hospital Provincial del Centenario, Rosario

**Resumen** Describimos el caso de una embarazada sensibilizada con un aloanticuerpo anti-Rh17 de muy amplia reactividad. Los glóbulos rojos de la paciente presentaban una delección parcial de los antígenos del sistema Rh, responsable de la aloinmunización encontrada. Debido a la dificultad de obtener sangre compatible se elaboró un plan de transfusión autóloga para cubrir las posibles demandas. El análisis molecular del locus *RH* demostró la presencia de un alelo híbrido *RHCE-D(5-7)-CE* que generaba el fenotipo deleccionado.

**Palabras clave:** sistema Rh, aloanticuerpo, alelo híbrido

**Abstract** *Alloimmunization to a high frequency Rh antigen.* We report the case of a pregnant woman sensitized with a panreactive anti-Rh17 alloantibody. Patient's red blood cells showed a partial deletion of Rh antigens, which was responsible for the alloimmunization. An autotransfusion program was instrumented so as to cover possible demands. Molecular analysis of the *RH* locus showed the presence of a hybrid *RHCE-D(5-7)-CE* allele that gave origin to the deleted phenotype.

**Key words:** Rh system, alloantibody, hybrid allele

El sistema Rh es el grupo sanguíneo más complejo y polimórfico de la membrana del glóbulo rojo. Está compuesto por más de 49 antígenos definidos por métodos serológicos siendo los más importantes D, C, c, E y e. Estos antígenos pueden presentar alteraciones en su expresión dando origen a fenotipos débiles, parciales o deleccionados, como productos de las variantes alélicas de los genes *RH*<sup>1,2</sup>.

El locus *RH* está compuesto por dos genes estructurales y adyacentes denominados *RHD* y *RHCE* que codifican dos proteínas transmembranales del eritrocito, RhD y RhCcEe respectivamente. Estos genes están formados por 10 exones cada uno y presentan un alto grado de homología<sup>3,4</sup>.

El sistema Rh presenta un gran interés clínico en obstetricia y medicina transfusional debido a la participación de sus aloanticuerpos en la destrucción inmune de los eritrocitos.

### Caso clínico

Paciente de 36 años embarazada que concurre a nuestro laboratorio por presentar antecedentes obstétricos y transfusionales que indicaban un embarazo de riesgo. En el primer parto presentó complicaciones hemorrágicas que requirieron la transfusión de dos unidades de sangre. Su segundo embarazo fue normal, pero el recién nacido desarrolló un cuadro de ictericia tratado con exanguinotransfusión, siendo muy difícil obtener sangre compatible. Posteriormente tuvo un embarazo ectópico con abundante pérdida de sangre. La paciente no fue transfundida por no disponer de unidades compatibles. El cuarto embarazo se interrumpió por un aborto espontáneo. Durante el quinto embarazo se estudió en nuestro laboratorio.

La paciente tipificada de grupo sanguíneo O RhD positivo, presentó un aloanticuerpo de título 16, reactivo con los dos viales del Panel Globular Selector, en medio enzimático y con la prueba de la antiglobulina indirecta. El suero reaccionó con todos los viales del Panel Globular Identificador y con 150 muestras de grupo O con distintos fenotipos Rh. Estudios posteriores demostraron que era un anticuerpo reactivo a 37 °C, de clase IgG y no fijador de complemento<sup>1</sup>.

Para determinar la especificidad del aloanticuerpo se utilizaron pruebas adicionales<sup>1</sup>. En hematíes de la paciente se realizó el fenotipo Rh detectando los antígenos D y c. No se pudo determinar la presencia de los antígenos E y e con ninguno de los 10 antisueros policlonales y monoclonales probados. Los ensayos de consumo y adsorción-elución de reactivos (anti-E y anti-e) confirmaron que los glóbulos rojos de la embarazada presentaban una delección de estos antígenos. El análisis del eluato obtenido luego de la incubación del suero

Recibido: 13-X-2005

Aceptado: 12-XII-2005

**Dirección postal:** Dr. Carlos Cotorruelo, Laboratorio de Inmunohematología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Suipacha 531, 2000 Rosario, Argentina  
Fax: (540341) 4804598 e-mail: ccotorru@fbioyf.unr.edu.ar

de la paciente con eritrocitos DccEE y Dccee, demostró que conservaba su amplia reactividad. Estos hallazgos, junto con la falta de actividad del suero con eritrocitos Rh<sub>null</sub> y DC-/DC- indicaron que la especificidad del aloanticuerpo era anti-Rh17 (anti-Hr<sub>o</sub>).

Debido a las características complejas de este aloanticuerpo y considerando la posibilidad que la madre o el recién nacido requirieran una transfusión sanguínea se propuso un plan de transfusión autóloga, modalidad predepósito, técnica "salto de rana"<sup>2, 5</sup>. El mismo se inició 30 días antes de la fecha probable de parto y consistió en la extracción y reposición de unidades de sangre, a intervalos regulares de siete días. Se realizaron controles de hematocrito y hemoglobina antes de cada extracción y se administraron aportes de hierro y suplementos vitamínicos. Al finalizar el programa propuesto se disponía de tres unidades de sangre de la paciente.

Posteriormente, investigamos las bases genéticas responsables de este fenotipo deleciónado aplicando distintas estrategias moleculares<sup>6</sup>. El estudio de la estructura y organización del locus RH en el ADN genómico se realizó analizando el origen de los distintos exones que componen los genes RHD y RHCE. Se encontró que el segmento de ADN que comprende los exones 5, 6 y 7 del gen RHCE fue reemplazado por el segmento equivalente del gen RHD, probablemente por un evento de recombinación homóloga, originando el alelo híbrido RHCE-D(5-7)-CE.

### Discusión

Los antígenos del sistema Rh son proteínas altamente inmunogénicas capaces de provocar una respuesta inmunológica en aquellos individuos que no los poseen. Este sistema presenta un gran interés clínico en obstetricia debido a que sus aloanticuerpos son responsables de la destrucción inmune de los hematíes en las incompatibilidades fetomaternas<sup>2, 4</sup>.

En este caso la embarazada presentaba un aloanticuerpo de alto riesgo inmunológico dirigido contra un antígeno de elevada frecuencia poblacional, dificultando la obtención de sangre compatible. Los estudios realizados mostraron que presentaba una deleción de los antígenos E y e. Este fenotipo de carácter excepcional era responsable de la sensibilización encontrada. Las determinaciones realizadas en el suero y el eluato indicaron que la especificidad del aloanticuerpo era anti-Rh17 (anti-Hr<sub>o</sub>). El antígeno Rh17 o Hr<sub>o</sub> está presente en todos los fenotipos Rh excepto en aquellos con deleción parcial o total. Aunque su caracterización no es completa, este antígeno estaría compuesto por epitopes múltiples<sup>1</sup>. Se ha demostrado que los eritrocitos con fenotipo D--, DC<sup>w</sup>- y Dc- carecen del antígeno Rh17 y que los individuos inmunizados sintetizan con frecuencia anti-RH17, encontrándose únicamente compatibilidad mutua entre ellos<sup>7</sup>. Debido al carácter excepcional de estos fenotipos, se planificó un programa de transfusión de sangre autóloga, para cubrir las posibles demandas durante el parto. La autotransfusión es una alternativa terapéutica empleada en algunos pacientes y su utilización ha aumentado en forma considerable en los últimos años<sup>1</sup>.

Aunque la recolección de sangre autóloga en las embarazadas es controvertida, este procedimiento es el único disponible cuando las pacientes presentan aloanticuerpos contra antígenos de alta frecuencia<sup>5</sup>. La labor conjunta del Servicio de Obstetricia, el Laboratorio Inmunohematológico y el Servicio de Medicina Transfusional, permitió resolver los posibles requerimientos transfusionales de la paciente y del recién nacido.

La investigación de la estructura y organización genética del locus RH en el ADN genómico de esta paciente con fenotipo Dc- demostró un importante rearrreglo del gen RHCE en el cual el segmento de ADN que comprende los exones 5, 6 y 7 fue reemplazado por el segmento equivalente del gen RHD, probablemente por un mecanismo de recombinación homóloga. Estos estudios mostraron la presencia de un gen RHD normal y un alelo híbrido RHCE-D(5-7)-CE compuesto por los exones 1 a 4 del gen RHCE, 5 a 7 del gen RHD y 8, 9 y 10 del gen RHCE (Fig. 1).

Debido a la gran homología que existe entre los genes RHCE y RHD, el intercambio unidireccional de fragmentos de ADN sería consecuencia de un desalineamiento cromosómico de los genes RH durante el proceso de la meiosis<sup>3, 8</sup>. En el caso estudiado, el gen RHD actúa como dador y el gen RHCE como aceptor. El gen RHCE se convierte en un recombinante mientras que el gen dador repara su estructura por medio de una síntesis de ADN. Este mecanismo genético es responsable también de muchas variantes D parciales en las cuales se ha demostrado la presencia de genes híbridos RHD-CE-D y de otros fenotipos causados por genes híbridos RHCE-D-CE<sup>4, 8</sup>. Investigaciones recientes han demostrado que el polimorfismo E/e está asociado a un único cambio de base en la posición 676 del exón 5 del gen RHCE que origina la sustitución del aminoácido Pro por Ala, en la posición 226 presente en el cuarto dominio extracelular de la proteína RhCcEe<sup>9</sup>. El alelo híbrido encontrado no posee el exón 5 del gen RHCE, originando una proteína quimérica que no expresa los epitopes E/e.

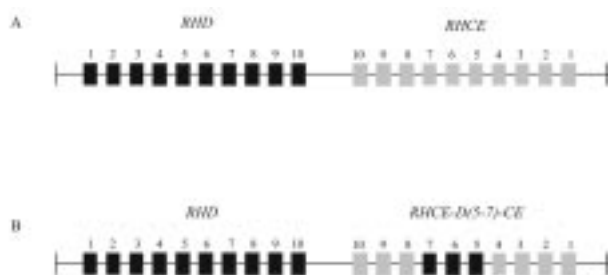


Fig. 1.- A) Organización del locus RH. Los genes RHD y RHCE presentan una orientación opuesta enfrentándose por sus extremos 3' y están compuestos por 10 exones cada uno. B) Rearreglo genético encontrado en el gen RHCE de la paciente con fenotipo Dc- que origina el alelo híbrido RHCE-D(5-7)-CE.

El rearreglo genético encontrado en el locus *RH* de esta paciente, responsable del fenotipo Dc-, es una evidencia más que la diversidad alélica y el polimorfismo existente en el sistema Rh están generados por intercambios de segmentos de ADN entre los genes *RHCE* y *RHD*, favorecidos por la gran homología y proximidad que existe entre ambos.

## Bibliografía

1. Vengelen-Tyler V. Technical Manual. 13<sup>rd</sup> ed. Bethesda: American Association of Blood Banks, 1999.
2. Mollison PL, Engelfreit CP, Contreras M. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 10<sup>th</sup> ed. Oxford: Blackwell, 1997.
3. Huang C, Liu P, Cheng J. Molecular biology and genetics of the Rh blood group system. *Semin Hematol* 2000; 37: 450-65.
4. Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. *Blood* 2000; 95: 375-87.
5. Bayoumeu F, Verspyck E. Prevention strategies during pregnancy. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2004; 33 (8 Suppl): 4S17-28.
6. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 5<sup>th</sup> ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1992.
7. Scott ML. The complexities of the Rh system. *Vox Sang* 2004; 1: 58-62.
8. Cartron J, Agre P. Rh blood groups and Rh-deficiency syndrome. *Blood Cell Biochem* 1995; 6: 189-95.
9. Cartron J, Bailly P, Le Van Kim C. Insights into the structure and function of membrane polypeptides carrying blood group antigens. *Vox Sang* 1998; 74: 29-64.

-----

[. . .] Vaya un puñado de consejos:

1. No incluir más autores que los que han intervenido directamente en el trabajo o en la investigación. Por hacer análisis de rutina o intervención accidental no se debe figurar como autor. Sólo aquellos que piensan, leen y ejecutan deben aparecer, para los demás basta un agradecimiento al final del trabajo. Siempre recuerdo que Wiggers, editor de *Circulation Research*, me hizo notar respecto a un artículo que enviamos para su publicación que tres autores eran suficientes y que sobraba un cuarto. Es común en la actualidad tener que revisar manuscritos con más de 10 autores. A veces puede, con buena voluntad, aceptarse que el autor *Senior* sea paternalista y quiera promover a sus colaboradores, otras veces es un pacto de ayuda mutua para multiplicar los trabajos de cada miembro del grupo.

Alfredo Lanari (1910-1985)

*Trabajos científicos e investigación científica* (1977). En: *Vocación y convicción. Reflexiones sobre la investigación y el futuro de la Medicina*. Compilación a cargo de R.S. Martín, J.A. Barcat y F.C. Molinas. Buenos Aires: Fundación Alfredo Lanari, 1995, pp 175-80