

Sistema Rh₀

(Lo que hay que saber)

SISTEMA Rh_o

THEI. Daniel S. Gargiulo

Coordinador docente Carrera Téc. en Hemoterapia
Esc. Central Esp. Paramédicas CRUZ ROJA ARG.
Servicio de Hemoterapia e Inmunohemat. Hospital Español

INTRODUCCIÓN:

El sistema Rh tiene una importante trascendencia clínica, debido al elevado poder inmunogénico de sus antígenos (especialmente el "D"), jugando un papel preponderante en la Enfermedad Hemolítica Fetoneonatal (E.H.F.N), en las Reacciones Hemolíticas Transfusionales (R.H.T) y en algunas Anemias Hemolíticas Autoinmunes (AHA).

Es uno de los sistemas de grupos sanguíneos de mayor polimorfismo, esta formado por aproximadamente 44 antígenos, definidos por métodos serológicos, que se encuentran en una lista numerados del RH1 al RH51; 7 de los cuales fueron declarados obsoletos por la ISBT.

HISTORIA:

En 1939 LEVINE y STETSON, luego de que una mujer diera a luz un feto muerto, hallan en el suero de la misma un anticuerpo que aglutinaba a los glóbulos rojos del marido y a los del 80% de la población ABO compatible.

En 1940 LANDSTEINER y WIENER inyectan hematíes de Macaco Rhesus a un conejo y observan que éste desarrolla un anticuerpo que aglutina no solo a los eritrocitos del mono sino que también, a los eritrocitos, del 85% de la población caucásica de Nueva York. Quienes suponen que se trata del mismo anticuerpo descubierto el año anterior, por lo tanto, proponen como nombre "*Sistema Rh*" por analogía con el antisuero producido por el conejo luego de la sensibilización con el **Rhesus**.

En 1942 utilizan el suero del animal como suero anti-Rh.

Se necesitaron casi 20 años para demostrar que los anticuerpos humanos y los animales no reaccionaban con el mismo antígeno (Rho), reasignándole a este nuevo sistema el nombre de **LW** en honor a sus descubridores; los antígenos de éste sistema son más frecuentes en individuos Rh-positivos que en Rh-negativos, de allí la concordancia que originó la confusión.

El anticuerpo humano descubierto por Levine y Stetson está dirigido entonces hacia el **antígeno "D" (Rho)** del sistema.

TEORÍAS Y NOMENCLATURAS:

El Sistema Rh (ISBT 004) sigue en importancia por su significado clínico al sistema ABO (ISBT 001), sus antígenos, entonces, están numerados desde el 004-001 hasta el 004-051.

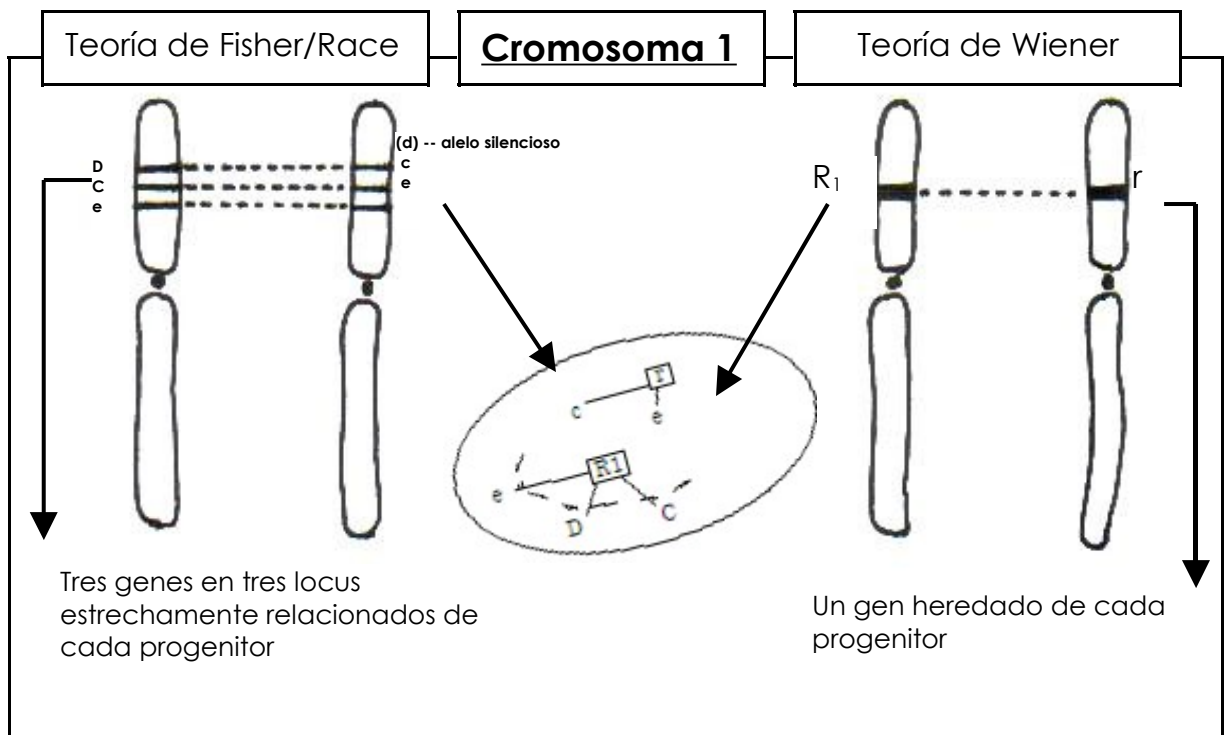
[Ver tabla N° 1 - se consignan aquí los 5 antígenos más significativos del sistema]

Teorías:

- a) FISHER y RACE en 1943 postulan que en el cromosoma 1 existen 3 (tres) locus estrechamente relacionados "D", "C" y "E" con dos pares de alelos "C" → "c" y "E" → "e"; y el alelo del "D" que no produce antígeno, por lo tanto aceptan colocar "d" para significar la ausencia del mismo. El grupo de alelos del complejo génico es denominado **haplotipo**.
- b) WIENER, en el mismo año sugería que hay múltiples alelos en un solo loci y que cada alelo codifica un antígeno distinto.- Los productos del gen (haplotipo) son designados "**R**", para los que codifican D y "**r**" para los que no codifican, se les agregan subíndices o supraíndices para indicar los distintos haplotipos que desarrollan. Para el lenguaje hablado es esta notación la que más se utiliza, por lo abreviada
Ejs.:

R_1 → expresa 3 antígenos → → Rho (D) - rh' (C) - hr'' (e)

r'' → expresa 2 antígenos → → [hr₀(d)] - hr' (c) - rh'' (E)



- c) ROSENFELD, en 1973 propuso un modelo genético con genes estructurales y genes operadores y utilizó la terminología numérica, (tal vez pensando que podía ser utilizada en un futuro cercano para informatizar al sistema), muy complicada cayó en desuso:
 D = 1, C = 2, E = 3, c = 4, e = 5, la ausencia del antígeno lleva el signo negativo adelante
 [Ver tabla N° 2]

La práctica demostró que la teoría de Fisher/Race parecía de por sí más probable, por tal motivo en 1977 el Comité de Estandarización de la OMS recomendó unificar criterios y que se adoptara universalmente esta nomenclatura, aunque los símbolos de Wiener resultaban más prácticos: $Dce/dce = R_1/r$

- d) Patricia TIPPETT en 1986 enunció una nueva teoría, que parecería ser más exacta que las anteriores, dice que en realidad existen 2 genes: Un gen **RHD** que codifica al antígeno D, la ausencia de este gen no produciría antígeno. Un segundo gen **RHCE** que codifica a los antígenos "C", "c", "E", y "e", (cuyo complejo génico sería "ce" - "cE" - "Ce" - "CE") A su vez existiría un tercer gen **RHAG** que produciría una proteína de membrana, que actuaría como *sustancia precursora*, sólo habrá expresión de los antígenos del sistema Rh si se ha expresado el gen **RHAG** (Ya que D y CE son codificados por genes diferentes conviene escribir **DCe** y no **CDe**)

Tabla 1

Denominación del antígeno				FRECUENCIA
Fisher-Race	Wiener	Rosenfield	ISBT	
D	Rho	RH 1	004-001	83,16 %
C	rh'	RH 2	004-004	67,83 %
E	rh''	RH 3	004-005	28,68 %
d	hr _o	----	----	65,24 %
c	hr'	RH 4	004-002	81,28 %
e	hr''	RH 5	004-003	97,59 %

En la anotación cotidiana se suele usar, como quedó ya expresado, D mayúscula para denotar la presencia del antígeno D y d minúscula para denotar su ausencia.

Independientemente de las teorías expuestas, los genes, están tan estrechamente relacionados, que forman *complejos génicos o haplotipos*, expresándose así en la membrana del hematíe:

Tabla 2

Complejos Génicos o Haplotipos				FRECUENCIA
	Fisher-Race	Wiener	Rosenfield	
1	DCe	R ₁	RH 1,2,-3,-4,5	42,050 %
2	dce	r	RH -1,-2,-3,4,5	38,863 %
3	DcE	R ₂	RH 1,-2,3,4,-5	14,109 %
4	Dce	R _o	RH 1,-2,-3,4,5	2,567 %
5	dcE	r''	RH -1,-2,3,4,-5	1,181 %
6	dCe	r'	RH -1,2,-3,-4,5	0,983 %
7	DCE	R _z	RH 1,2,3,-4,-5	0,243 %
8	dCE	r ^y	RH -1,2,3,-4,-5	0,005 %

Un problema que siempre existió es la confusión entre genotipo y fenotipo, basado en el hecho de que personas con un solo gen "D" no pueden ser distinguidos por pruebas serológicas habituales de aquellos que portan dos genes que expresen el antígeno "D".

Por lo tanto los ocho complejos génicos o haplotipos, descritos en la tabla N° 2, al aparearse al azar pueden formar 36 genotipos distintos:

- ✓ 18 (dieciocho) de los cuales son distinguibles
- ✓ 8 (ocho) de los mismos son iguales al fenotipo
- ✓ y los 10 (diez) restantes corresponden a 2, 3, o 6 genotipos

[Ver tabla de fenogenotipos adjunta]

BIOQUÍMICA DEL COMPLEJO Rh

Teniendo en cuenta lo expresado por Tippett, y análisis inmunoquímicos posteriores, revelarían que los antígenos del Sistema Rh son proteínas de transmembrana codificadas por genes que se encuentran en el brazo corto del cromosoma 1 (RHD - RHCE) y en el cromosoma 6 (RHAG).

El gen del cromosoma 1 (RHD - RHCE) codificaría proteínas de 417 aminoácidos, que se encuentra integrada a la bicapa de la membrana del eritrocito, estas proteínas tendrían un PM de 30.000 a 50.000 y con una similitud del 92% entre ambas; pasarían la membrana hasta 12 veces formando 6 rulos externos, hidrofílicos, que generarían los dominios de asociación antigénica.

Estas proteínas son parte integrante (*proteína integral*) de la membrana eritrocitaria (sólo se lo encuentra allí). Como vemos son muy iguales entre sí y diferirían entre 30 a 36 aminoácidos.

En cuanto a las diferencias antigénicas entre "D" y "C" "c" estarían expresadas en el segundo rulo extracelular y entre "D" y "E" "e" lo estarían en el cuarto.

La proteína del cromosoma 6 (RHAG), que actuaría como carrier (o *¿precursor?*, sólo se van a expresar los antígenos del sistema, si se encuentra presente), consta de 409 aminoácidos, tiene un PM 50.000 y una similitud del 40% con las anteriores.-

Se desconoce el papel biológico de las proteínas Rh, se cree que actuarían como transportadores de cationes. Pero tendrían una importancia fundamental en la estructura de la membrana del hematíe ya que se comprobó que, su ausencia (en los muy raros casos "Rh null") compromete a la morfología eritrocitaria de tal manera que produce verdaderos esferocitos, con una viabilidad globular obviamente disminuida.

[Ver figura 1]

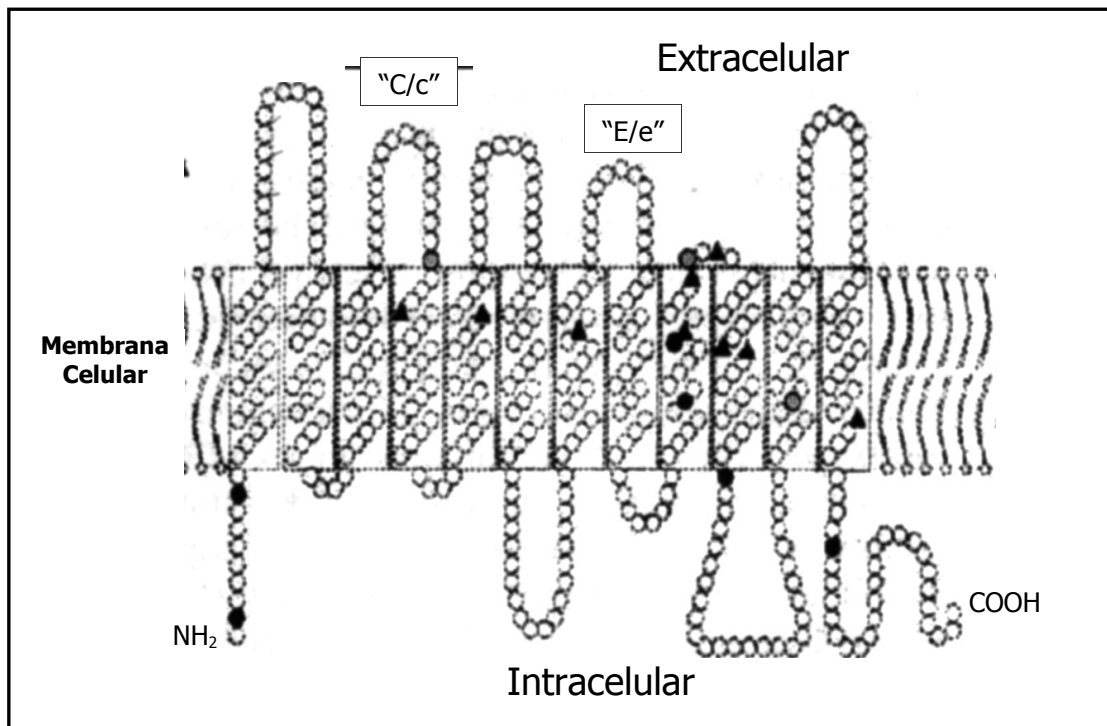


Figura 1

Hay que considerar que los genes alélicos pueden por diferentes mecanismos (mutaciones, deleciones, efectos de posición, supresiones, etc.) afectar su expresión, lo que generaría los casi 50 antígenos diferentes que conforman el sistema.

Antígenos del Sistema

Después de los antígenos A y B el **antígeno D** es el más importante, por que como dijimos anteriormente produce severas reacciones hemolíticas; por lo tanto su identificación es imprescindible y su presencia define a los individuos como **Rh positivos**.-

Esta presente en el 85% de la población de raza blanca y en el 95% de la raza negra y casi en el 100% de algunas poblaciones; sólo 3 de cada 1000 chinos de Hong Kong y sólo 3 de cada 1000 japoneses son Rh negativos, aunque en realidad parece ser que serían D débiles.

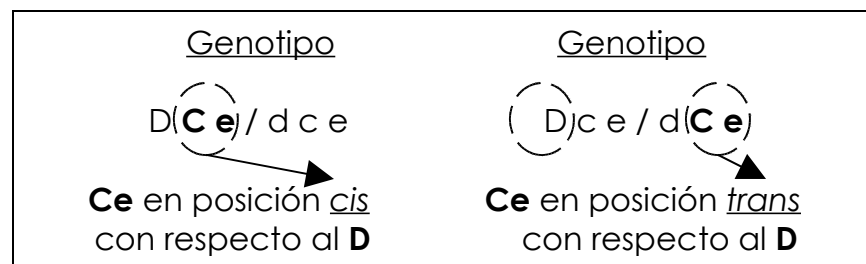
MOLÉCULAS DEL ANTIGENO "D" POR CÉLULA	
$R_1/r - (DCe/dce)$	9.000 a 14.000
$R_0/r - (Dce/dce)$	12.000 a 20.000
$R_2/r - (DcE/dce)$	14.000 a 16.000
$R_1/R_1 - (DCe/DCe)$	14.500 a 19.500
$R_1/R_2 - (DCe/DcE)$	23.000 a 31.000
$R_2/R_2 - (DcE/DcE)$	15.800 a 33.500
D_{-}/D_{-} (Parcialmente deleccionado)	110.000 a 202.000

Investigaciones realizadas con anticuerpos monoclonales demostraron que el antígeno D es un mosaico compuesto por varios epitopes diferentes,

según algunos autores serian alrededor de 37, lo que ocasiona variables antigénicas de tipo cuantitativas y cualitativas que dan origen a los fenotipos **D débiles** y **D parcial** respectivamente.

Fenotipo "D" débil:

Los eritrocitos de fenotipo *D débil* poseen un número menor de sitios antigénicos, puede deberse a un gen que produce menor cantidad de antígeno, antiguamente llamado *D^u de alto grado*, o ser resultado del efecto supresor del haplotipo "**Ce**" en posición "trans", *D^u de bajo grado*.



Como en estos casos no se trata de una diferencia cualitativa sino debido puramente a una menor cantidad de sitios antigénicos, el término **D^u** propuesto por Stratton en 1949, debe ser abolido y reemplazado por el de **D débil**.

Algunos fenotipos *D parcial* pueden presentar una disminución cuantitativa del antígeno D, pudiendo ser erróneamente clasificados como D débil, debido a que la identificación de éste fenotipo depende fundamentalmente del reactivo "**anti D (Rho)**" y del método utilizado para su investigación.

Se deberían tomar precauciones al realizar la vieja técnica del D^u (terminar, luego de la incubación con reactivo anti-D, con SAGH - PAI) ya que puede llevar a tipificar erróneamente a un dador/paciente **Rh negativo**, portador de un auto o aloanticuerpo, cómo **Rh positivo** (D^u Positivo).- Por este motivo algunos autores abogan por el abandono en forma definitiva de esta prueba

Fenotipo "D" parcial:

Se descubrieron algunos raros casos en que individuos, que habían sido fenotipados cómo Rh positivos, es decir son portadores del antígeno D igual se sensibilizaban (producían anticuerpos anti-D) al ser estimulados con glóbulos rojos portadores de dicho antígeno (transfusiones – embarazos).-

Estudios posteriores demostraron que los eritrocitos con este fenotipo se caracterizan por la ausencia de uno o más epitopes del mosaico que componen el antígeno "D", de ahí la capacidad de producir aloanticuerpos específicos hacia él o los epitopes faltantes, al ser inmunizados con glóbulos rojos Rh D positivo.

De acuerdo al comportamiento que presentan los glóbulos rojos Fenotipo "D" parcial al ser enfrentados con sueros de individuos D-negativos sensibilizados, fueron agrupados inicialmente, en siete categorías:

Clasificación de Tippett y Sanger:

Categ. I		Obsoleta - presencia transitoria de anti-D
Categ. II		No se pudo obtener suero para terminar su estudio
Categ. III	a)	Los reactivos monoclonales de uso corriente no diferencian a éstos de un D normal
	b)	
	c)	
Categ. IV	a)	
	b)	
Categ. V	a)	Los reactivos monoclonales de uso corriente no lo reconocen como una variante del antígeno D - Suelen ser detectados en la fase de la antiglobulina
	b)	
	c)	
Categ. VI		Carecen de la mayoría de los epitopes del antígeno D Pertenecen a esta categoría aproximadamente el 0,002 % de la población blanca, y se encuentra asociado mayoritariamente a Ce. La mayor parte de los individuos producen anti-D de significación clínica (EHFN - RHT) y sus eritrocitos no reaccionan en las pruebas directas con los reactivos anti-D comunes.
Categ. VII		Se asocia a la presencia del antígeno Targett (Rh 40)

De acuerdo con lo anterior inferimos que la identificación del **fenotipo D^{VI}** en la población es importante ya que al ser considerados **D-negativos** podrían, sus eritrocitos producir **aloanticuerpos anti-D** en los receptores negativos, por lo tanto, parecería ser necesario la utilización de dos antisueros distintos, uno para tipificar a pacientes y otro para tipificar donantes:

- 1- Para estudiar donantes y recién nacidos (sensibilizantes): se debería usar un **Anti D** que reaccione con eritrocitos **D^{VI} (policlonal-IgG o policlonal-IgM salino o policlonal IgG químicamente modificado)** en pruebas directas o en fase antiglobulínica,
- 2- Para pacientes y embarazadas: un reactivo **Anti D monoclonal** que no detecte esta variante y que reaccione con los **D débiles (Monoclonal Blend o Monoclonal IgG + IgM o Mezcla mono-policlonal)**, se deben usar sólo en pruebas directas en platina o tubo y **NO** en fase antiglobulínica.

De esta manera al no ser detectada dicha variante, serían caratulados como D-negativos y transfundidos con sangre D-negativa. Por esta misma razón las púerperas recibirían, también inmunoprofilaxis anti-D.

Otros antígenos

Después del "D" los antígenos **C**, **c**, **E** y **e** son los de mayor importancia en el Sistema, estos 5 antígenos son los responsables de más del 99% de los problemas clínicos relacionados con dicho sistema; ya que algunos individuos que carecen de la expresión de alguno de ellos, pueden cuando son inmunizados, producir anticuerpos contra el antígeno faltante.

Antígenos "C" y "c"

El antígeno "C" tiene una frecuencia aproximada del 68% en la población general, frente a una frecuencia del 81% del antígeno "c", este último es el más inmunógeno luego del D y como tal es causante de riesgo en la E.H.F.N.

Antígenos "E" y "e"

El antígeno "E" tiene una frecuencia del 27% en la población general mientras que el "e" ronda cercano al 98%.

Algunos antígenos significativos de baja frecuencia

- **C^w** (originariamente denominado Willie) ubicado con el N° Rh 8, es producido por un gen C^w/C o C^w/c puede ocasionar EHFN.
- **E^w** es mucho más raro, ubicado como Rh 11
- **Ce** o Rh 10 es un antígeno compuesto, producto de la unión de genes ya que se encontró un anticuerpo no separable anti-Ce cuando se encuentra en posición *cis* -Dce o dCe- (R_o o r').
- **ce**, antígeno "**f**" o Rh 6 al igual que el anterior determina un componente antigénico cuando ambos se encuentran en posición *cis*.
- **CE**, antígeno Jarvis o Rh 22 es producto de genes DCE y dCE (R_z y r')

Anticuerpos del Sistema

Los anticuerpos del sistema son generalmente producto de una respuesta inmune aunque algunos pueden ser de ocurrencia natural, alrededor del 2%.

El anticuerpo inmune más comúnmente encontrado es el **anti-D**, que puede ser detectado en la fase de antiglobulina, como así también empleando ciertos potenciadores, como los medios de baja fuerza iónica, medios coloidales (albúmina bovina al 22% y polietilenglicol), medios enzimáticos o Polybrene.-

La mayoría de éstos **IgG anti-D** son predominantemente **IgG₁ – IgG₃** en individuos hiperinmunizados, aunque en las embarazadas es más frecuente encontrar una sola clase de IgG.- Tanto en un caso como en el otro, estos **anti-D** no suelen provocar hemólisis intravascular, la explicación sería, primero por que la subfracción de inmunoglobulinas que lo componen son en líneas generales poco fijadoras de complemento, y segundo por que los sitios D

están muy separados en la superficie eritrocitaria quedando por lo tanto las moléculas muy distantes entre sí.

Algunos sueros contienen mezclas de IgG e IgM, también se detectó IgA, pero siempre como un componente de menor cuantía y asociado con la hiperinmunización.

En sueros de pacientes que forman un anticuerpo anti-Rh distinto al “**D**”, los más comúnmente encontrados son el **anti-c** y el **anti-E**.

Con respecto al anti-c se debe destacar que siempre es de origen inmune y es el más importante desde el punto de vista clínico luego del **anti-D**, ya que es productor de EHFN y RHT; en cambio el origen inmune del anti-E es raro, aunque más común que el anti-C, casi siempre es de origen natural y no inmune suele, en ocasiones, ser no detectado en SAGH, la mayoría reacciona en pruebas potenciadas con Polybrene, Enzimas o LISS.

La existencia de **anti-C** sin **anti-D** es rara, dada su baja antigenicidad, la frecuencia de aparición es de 1/10000.

MISCELÁNEAS:

Los pacientes portadores de “**D Parciales**” (**D^{VI}**), que pertenecen, recordemos al 0,002% de la población, deben ser considerados como **Rh Negativos** si necesitan recibir sangre, al igual que las embarazadas que durante y después del embarazo deberán recibir la inmunoprofilaxis anti-Rh correspondiente.-

Aunque, como citan algunos autores, es poco probable, que un individuo **D^{VI}** sea capaz de sensibilizar a otro **D Negativo**, debe ser considerado **Rh D-Positivo** como donante de sangre.

Bibliografía:

1. American Association of Blood Banks
Manual Técnico 11º Ed. - Capítulo 11
2. Lucca: Sistema de Grupo Sanguíneo Rh Antígenos y anticuerpos
Revista Argentina de Transfusión - Vol. XXII - Nº 4 - 1996
3. S. Anhel, M. Torrado: Enfermedad hemolítica en un Recién Nacido de madre con D parcial
Revista Argentina de Transfusión - Vol. XXVI - Nº 3 - 2000
4. Cotorruelo, Biondi, García Borrás, Racca: Nuevas estrategias para el análisis genético y molecular del Sistema Rh
Revista Argentina de Transfusión - Vol. XXVII - Nº 1 - 2001
5. M. Russo: Sesenta años no es nada... Rhesus
Hemotécnica - vol. XI - Nº 1 - 2001
6. G. Daniels: Basic Rh serology
Molecular and functional aspects of blood group antigens - AABB - 1995
7. P. Tippet: Variants of Rh D antigen
Blood Group system AABB - 1987
8. M. Scott: Monoclonal anti-D
Transfus Med - 1995
9. D. J. Anstee: Biochemistry and molecular genetics of Rh
Bailliere's Clin Haematol 1993

Tabla N° 3

Tabla de Genotipos Rh/Hr ordenados por Fenotipos												
Reacciones con Sueros Anti....					Fenotipos	Occurrencia del fenotipo (%)	Genotipos			Occurrencia del genotipo en la población total (%)		
D	C	E	c	e			Wiener	Fisher/Race	(%) Negativos Rh.		(%) Positivos Rh.	
-	-	-	+	+	ddccee	15,10	r r	Ⓡ	dce / dce	89,67		15,10
-	-	+	+	+	ddccEe	0,92	r ^m r	Ⓡ	dcE / dce	5,48		0,92
-	+	-	+	+	ddCcee	0,76	r ['] r	Ⓡ	dCe / dce	4,54		0,76
-	+	+	+	+	ddCcEe	0,027	r ['] r ^m	*	dCe / dcE	0,14		0,02
-	+	+	+	+	ddCcEe	0,027	r ^y r	×	dCE / dce	0,02		0,003
-	-	+	+	-	ddccEE	0,014	r ^m r ^m	Ⓡ	dcE / dcE	0,08		0,014
-	+	-	-	+	ddCCee	0,010	r ['] r [']	Ⓡ	dCe / dCe	0,06		0,010
-	+	+	+	-	ddCcEE	0,0001	r ^m r ^y	Ⓡ	dcE / dCE	0		0,0001
-	+	+	-	+	ddCCEe	0,0001	r ['] r ^y	Ⓡ	dCe / dCE	0		0,0001
-	+	+	-	-	ddCCEE	0,00001	r ^y r ^y	Ⓡ	dCE / dCE	0	0,00001	

+	+	-	+	+	D_Ccee	34,89	R ₁ r	*	DCE / dce	39,29	32,68
							R ₁ R ₀	×	DCE / Dce	2,6	2,15
							R ₀ r'	×	Dce / dCE	0,06	0,05
+	+	-	-	+	D_CCee	18,50	R ₁ R ₁	*	DCE / DCE	21,26	17,68
							R ₁ r'	×	DCE / dCE	0,99	0,82
+	+	+	+	+	D_CcEe	13,34	R ₁ R ₂	*	DCE / DcE	14,27	11,86
							R ₁ r''	×	DCE / dcE	1,2	1,0
							R ₂ r'	×	DcE / dCE	0,33	0,27
							R _z r	×	DCE / dce	0,23	0,19
							R ₀ R _z	×	Dce / DCE	0,01	0,012
							R ₀ r ^y	×	Dce / dCE	0	0,0003
+	-	+	+	+	D_ccEe	11,75	R ₂ r	*	DcE / dce	13,18	11,0
							R ₂ R ₀	×	DcE / Dce	0,87	0,7
							R ₀ r''	×	Dce / dcE	0,07	0,06
+	-	+	+	-	D_ccEE	2,32	R ₂ R ₂	*	DcE / DcE	2,39	2,0
							R ₂ r''	×	DcE / dcE	0,4	0,33
+	-	-	+	+	D_ccee	2,06	R ₀ r	*	Dce / dce	2,4	2,0
							R ₀ R ₀	×	Dce / Dce	0,08	0,06
+	+	+	-	+	D_CCEe	0,21	R ₁ R _z	*	DCE / DCE	0,25	0,2
							R _z r'	×	DCE / dCE	0	0,005
							R ₁ r ^y	×	DCE / dCE	0	0,004
+	+	+	+	-	D_CcEE	0,07	R ₂ R _z	*	DcE / DCE	0,08	0,07
							R _z r''	×	DCE / dcE	0	0,006
							R ₂ r ^y	×	DcE / dCE	0	0,001
+	+	+	-	-	D_CCEE	0,0006	R _z R _z	*	DCE / DCE	0	0,0006
							R _z r ^y	×	DCE / dCE	0	0,00001

REF: ® = Genotipo Real
 * = Genotipo más probable
 × = Genotipo menos probable

Fuente AATHI 2000