BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

DEPARTAMENTO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

“DETERMINACIÓN DE LA IMPORTANCIA DE REALIZAR EL SISTEMA DUFFY EN EL SISTEMA ABO EN MUESTRAS DE PACIENTES Y DONADORES ATENDIDOS POR CENTRO ESTATAL DE TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA DEL ESTADO DE PUEBLA DURANTE EL PERIODO OCTUBRE 2017 A ENERO 2018”

TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIATURA EN QUÍMICO FÁRMACO BIÓLOGO

PRESENTA

p.Q. F. B. VIRIDIANA DE YTA HERNANDEZ

DIRECTOR

M.C. JORGE ALFREDO CALZADA MARTÍNEZ

ASESOR INTERNO

M.C. RAFAEL MUÑOZ BEDOLLA

Abril. 2018

AGRADECIMIENTOS

A mis padres: ROSA HERNÁNDEZ RAMÍREZ Y

AURELIANO DE YTA LÓPEZ

Por el apoyo que me han brindado, por todo lo bueno y malo que hemos pasado y que me ha ayudado a crecer

A mis 3 hermanos de sangre: por todos los buenos momentos que pasamos juntos

Y a los hermanos y amigos que la vida me ha regalado: José. Augusto, Oscar, Jenny…

OSCAR RAFAEL MÉNDEZ CASTAÑEDA

Por estar a mi lado cuando más te he necesitado y en todo momento brindarme tu apoyo, amor, cariño y comprensión. Te amo

A: Marcelina Castañeda Cervantes, Alejandra Sarahí Méndez C, Sandra Méndez C, y Yoana Méndez C. por todos los momentos compartidos y que no tengo duda que a todos nos ha ayudado a ser mejores personas cada día

M.C. Jorge Alfredo calzada Martínez y M.C. Rafael muñoz Bedolla por el apoyo brindado para realizar esta tesis, amistad y el apoyo personal y profesional que he recibido

A todas las personas que han creído en mí y que me han brindado su apoyo para mi crecimiento personal y profesional

ÍNDICE

	Páginas
1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Marco teórico	3
4. Objetivos	21
5. Planteamiento del Problema	22
6. Justificación	23
7. Hipótesis	24
8. Diseño de investigación	25
9. Metodología	26
10. Diagrama de trabajo	28
11. Resultados	29
12. Discusión de resultados	38
13. Conclusión	44
14. Bibliografía	46

Resumen

La sangre es un tejido importante para el ser humano. La ISBT tiene el registro de 36 sistemas antigénicos ordenados en base a su importancia clínica, en primer lugar, se encuentra el sistema ABO que se considera de mayor importancia clínica, también se encuentra el sistema Rh y Duffy

Mediante diversos estudios se ha caracterizado las propiedades físicas y químicas de la sangre, así como sus componentes y funciones en el cuerpo, teniendo en cuenta los beneficios que aporta la sangre se ha desarrollado la transfusion sanguínea con fines terapéuticos para poder ayudar a pacientes con déficit sanguíneo.

Se analizan muestras de pacientes y donadores atendidos en el centro estatal de transfusión sanguínea (CETS) del estado de Puebla, para tipificar los sistemas sanguíneos ABO, Sistema Rh-D y sistema Duffy, para estableces frecuencia de fenotipos de la población estudiada y hacer el análisis de compatibilidad entre paciente y donador de las solicitudes atendidas en el CETS

La determinación de lo sistema ABO, Sistema Rh y Sistema Duffy se realizará por hemaglutinación por prueba directa e inversa y aplicando técnica de antiglobulina humana.

En este trabajo se presenta un estudio de los fenotipos eritrocitarios de una población de pacientes y donadores, para conocer sus frecuencias y ver si existen variaciones importantes debido a que es necesario transfundir sangre compatible con un fenotipo específico.

Introducción

La sangre es un tejido importante para la vida del ser humano, a lo largo del tiempo ha sido objeto de diversos estudios con los que se ha demostrado que está compuesta por una parte solida: eritrocitos o glóbulos rojos (GR), leucocitos o glóbulos blancos, plaquetas, y una parte líquida: plasma, llegando a la conclusión que hasta el día de hoy no hay nada que la sustituya, los GR contienen en su membrana diferentes proteínas, carbohidratos y lípidos que forman estructuras en su superficie denominados antígenos. La ausencia o presencia de uno o varios antígenos determinan un grupo sanguíneo, se conocen más de 30 sistemas antigénicos de importancia clínica los más conocidos son el sistema ABO y sistema Rh (D). (Arbeláez, 2009; Moyado, Quintanar y Mejía, 2004).

La clasificación de los grupos sanguíneos revolucionó la práctica de la transfusión sanguínea que tiene el fin de reponer un déficit de cualquier hemocomponente por consecuencia de alguna patología o traumatismo. La OMS refiere que una transfusión sanguínea es la transferencia de sangre o componentes sanguíneos de un sujeto donante a otro recepto, con el fin de salvar la vida del paciente, de ahí la necesidad que los servicios de salud procuren mantener un suministro adecuado de sangre, por lo que ha establecido una serie de recomendaciones para el buen uso de los componentes sanguíneos, estas recomendaciones las emplean los bancos de sangre a nivel mundial y a la vez se establece con carácter obligatorio en México en la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012 Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos

Marco teórico

Antecedentes históricos

La historia ha atribuido a la sangre numerosas propiedades, existen reportes de muchas culturas como en la india, Japón, Egipto y México que practicaban la sangría como un sacrificio o método terapéutico con el objetivo de corregir temporalmente una deficiencia o alteración de una función. (Renán y Góngora, 2005; Alvares, 2012; Pliego y Flores, 2012).

William Harvey (1628) describe por primera vez la circulación y las propiedades de la sangre, años después en 1665 Richard Lower realiza la primera transfusión sanguínea de animal-animal al desangrar un perro casi hasta la muerte y revivirlo con sangre de otro perro y en 1667 L. B. Denis realiza la primera transfusión de animal-hombre al transfundir sangre de una oveja, sin embargo; durante varios siglos se prohibió la práctica transfusional debido a los casos de fracaso que se presentaron teniendo como consecuencia atrasos en el avance de la medicina transfusional. (Myhre,1990; Renán y col, 2005; Salvatella, 2008). Para 1818 James Bundell realiza exitosamente una transfusión de sangre humana a una paciente que presento hemorragia durante el parto y entre 1825 y 1830 realiza 10 transfusiones más donde cinco resultan beneficiosas para sus pacientes. (Aguilar, 2004; Pliego y col, 2012).

En la actualidad se sabe que la sangre transfundida induce la producción de IgG contra diversos antígenos de membrana, con más frecuencia de los sistemas Rh, Kidd, Kell y Duffy. Los anticuerpos contra los antígenos A, B y O suelen ser de la clase IgM sin embargo los anticuerpos de la clase IgG (inmunoglobulina G) pueden aparecer a causa de transfusiones repetidas y causar reacciones transfusionales (Kindt, Goldsby y Osborne, 2007)

Inmunoglobulinas

Los anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig) son proteínas encargadas de detectar elementos extraños que puedan entrar y dañar el organismo; se dividen en 5 clases según su actividad biológica: IgA, IgG, IgM, IgD e IgE. La capacidad de un

anticuerpo para aglutinar a los eritrocitos depende en gran medida de la clase de inmunoglobulina a la que pertenece (Kindt y col, 2007).

- IgM: peso molecular: 900000 k/Da, tiene una vida media en suero de 5 días, es el primer anticuerpo que se genera durante la respuesta inmune por inflamación o daño tisular, receptor del Ag de linfocitos B vírgenes y activación del complemento, su temperatura de reacción es de 4ºC a 27ºC, estructura pentámera (Figura 1). (Parham, 2014, Kindt y col, 2007; Abbas, Lichtman y Pillai, 2008; Arbeláez, 2009)
- IgG: tiene un peso molecular de 150000 k/da, tiene una vida media en suero de 23 días, tiene un importante papel en la defensa contra patógenos que invaden el cuerpo, son abundantes en circulación sanguínea y son los únicos capaces de atravesar la placenta además de participar en oopsonización, activación del complemento, citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos, inmunidad neonatal, su temperatura de reacción es de 37ºC. estructura: monomero (Figura 1). (Parham, 2014; Kindt y col, 2007; Abbas y col. 2008; Arbeláez, 2009)
- IgA: peso molecular de 150000 – 600000 k/da, tiene una vida media en suero de 6 días, participa en la inmunidad en mucosas, no atraviesa placenta, su temperatura de reacción es de 4ºC a 27ºC. Estructura dímera (Figura 1). (Kindt y col, 2007; Abbas y col, 2008; Arbeláez, 2009)
- IgE: peso molecular 190000 k/Da, tiene una vida media en suero de 2 días, cumple la función de defensa contra parásitos, helmintos, hipersensibilidad inmediata, no tiene la capacidad de atravesar placenta, su temperatura de reacción es de 4 – 27 ºC. Estructura: monómero (Figura 1). (Kindt y col, 2007; Abbas y col, 2008; Arbeláez, 2009)
- IgD: peso molecular de 150000 k/Da , tiene una vida media en suero de 3 días funciona como Receptor de Ag de linfocitos B vírgenes, no es capaz de atravesar placenta, su temperatura de reacción es de 4ºC a 27 ºC. Estructura monómera (figura1) (Kindt y col, 2007; Abbas y col, 2008; Arbeláez, 2009)

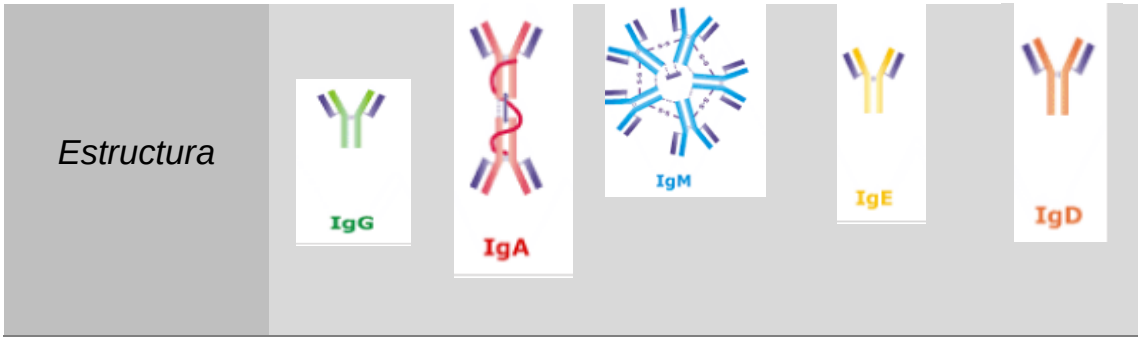


Figura 1: Estructura de las inmunoglobulinas encontradas en suero humano. Tomado y modificado de (Abbas, y col, 2008)

Sistemas eritrocitarios

Sistema ABO

El sistema ABO se encuentra en la clasificación 001 de la International Society of Blood Transfusion (ISBT). En 1900 Karl Landersteiner describe los antígenos (Ag) del sistema sanguíneo ABO, al mezclar suero y células rojas de diferentes personas con cual se tipificaron los tres primeros grupos sanguíneos A, B, y C (más tarde llamado O), y propuso una teoría sobre la especificidad de las reacciones serológicas. En 1902 Descastello y Sturli descubrieron el grupo AB en sangre de individuos cuyo suero no aglutinaba eritrocitos y sus células si eran aglutinadas por otros sueros. (Jaime y Gómez. 2009; Arbeláez, 2009). Hasta 1928 fue aceptada la nomenclatura para clasificar los grupos sanguíneos propuesta por Jansky que estableció cuatro grupos sanguíneos: A, B, O y AB (Grispan, 1983).

Los antígenos del sistema ABO se detectan en la membrana eritrocitaria entre la 5ª y 6ª semana de gestación, pero se desarrollan completamente entre los 2 y 4 años y permanecen constantes durante toda la vida (Tabla 1), disminuyendo su expresión en ancianos y en ciertas patologías como cáncer de próstata, carcinoma de glándulas salivales, cáncer gástrico, ulceras gástricas, trombosis, artritis reumatoide, enfermedad de von Willebrand, entre otras.

Los antígenos A y B fueron identificados inicialmente sobre la membrana eritrocitaria, pero también se ha demostrado su presencia en células epidérmicas, células del bazo, en paredes del endotelio de capilares, venas y arterias, en

mucosas gástricas y algunas secreciones como saliva, por tal motivo el sistema ABO también es llamado sistema de grupo histo-sanguineo (Arbeláez, 2009).

Epstein y Ottenberg sugieren que los grupos sanguíneos son heredados; en 1910 von Dungern y Hirschfeld confirmaron la herencia de los antígenos A y B demostrando que obedecen las leyes de Mendel (Geoff, 2013). Se sabe que el gen ABO está localizado en el brazo largo del cromosoma 9 y Bernstein señalo que era necesario 3 alelos en un locus para explicar la herencia ABO, el alelo A codifica la transferasa A para la generación del antígeno A, el alelo B codifica la transferasa B para la generación del antígeno B, el alelo O se diferencia del alelo A en la delección de un nucleótido lo que determinara un cambio en el marco de lectura y la producción de una proteína sin actividad de transferasa. (Batissoco y Zago, 2003; Arbeláez, 2009).

Subgrupos de A y B

Los subgrupos ABO se diferencian por las cantidades de antígenos A y/o B en la membrana eritrocitaria, y el grado de aglutinación con los anticuerpos anti-A, anti-B y anti-AB. En 1911 Von Dungern y Hirszfeld reconocieron por primera vez los subgrupos de A, al identificar dos aglutininas A de diferente especificidad en el suero de personas con sangre de los grupos B y O. (Miale, 1985; Green, 1989). Los subgrupos de A son más frecuentes que los subgrupos B, a la vez los subgrupos A de mayor incidencia son: A1 y A2, presentando una reacción fuerte con reactivos anti-A en pruebas de aglutinación directa; sin embargo, la distinción serológica entre A1 y A2 se basa en la aglutinación con anticuerpos monoclonales y lectinas específicas; los eritrocitos A1 aglutinan en presencia de lectina de Dolichusbiflorus (Lectina anti -A1), y los A2 por la lectina de Ulexeuropaeus (lectina anti-H). (Franchini y Lippi, 2013; García, Lippi y Valverde 2001). En una transfusión sanguínea el grupo A_1 es capaz de aceptar cualquier subgrupo A, sin embargo, el subgrupo A_2 puede producir anticuerpos anti A_1 posiblemente porque A_2 reacciona con el antígeno A que se forma a partir de la sustancia precursora H3 y H4, de modo que debe recibir eritrocitos A2 y no A1. (Coppo y col, 2003)

Aproximadamente 80% de tipo de sangre A o AB se clasifican como A1 o A1B, y aproximadamente 18 % restante son A2 o A2B. Una diferencia notable en los eritrocitos de los individuos es el número de sitios antigénicos por célula; A1 presenta aproximadamente 10^6 Ag por célula, mientras los A2 presenta de 0,2 a 0,4 x 10^6 Ag por cada célula eritroide, además existen otros subgrupos de A considerados débiles los cuales presentan una reactividad antigénica inferior a la de las células A2 (A_3, A_x, A_{end}, A_m, A_{el}) (Tabla 1). (Carmona, 2006; Arbeláez, 2009; García y col, 2001). Del mismo modo el grupo sanguíneo B (B1) es el más común entre los individuos B, sin embargo, existen otros subgrupos B considerados débiles (B3, B_x, B_m, B_{el}) que presentan baja reactividad antigénica (Tabla 1) (Salmon, 1976; Geoff, 2003)

Fenotipo eritrocitario	*Reacción de células con antisueros contra:*					*Reacción de suero contra eritrocitos*				*NO. de sitios antigénicos*
	A	B	AB	H	A1	A1	A2	B	O	
A1	4+	0	4+	0	4+	0	0	4+	0	810000 – 1170000
A int	4+	0	4+	3+	2+	0	0	4+	0	
A2	4+	0	4+	2+	0	**	0	4+	0	240000 – 290000
A3	2+cm	0	2+cm	3+	0	**	0	4+	0	7000 – 100000
Am	0/±	0	0/±	4+	0	0	0	4+	0	200 – 1900
Ax	0/±	0	1+/2+	4+	0	2+/0	0/1+	4+	0	1400 – 10000
Ael	0	0	0	4+	0	2+/0	0	4+	0	100 – 1400
A1B	4+	4+	4+	0	4+	0	0	0	0	460000 - 850000
A2B	4+	4+	4+	4+	0	0	0	0	0	120000
B	0	4+	4+	0		4+	4+	0	0	610000 – 830000

B3	0	1+cm	2+cm	4+	4+	4+	0	0	200000
Bm	0	0	0/±	3+	4+	4+	0	0	
Bx	0	0/±	0/2+	4+	4+	4+	0	0	5000
Bel	0	0	0	4+	1+	1+	0	0	

*1+ a 4+: aglutinación intensa; ± aglutinación débil; cm: aglutinación de campo mixto;0: no aglutinación; ** anti-A1 es variable*

Tabla 1: Características serológicas de los subgrupos A y B. En esta tabla se describe la reactividad antigénica de los subgrupos de A y B al enfrentar las células con Antisueros y células conocidas con plasma de la muestra problema; número de sitios antigénicos en la membrana del eritrocito. Tomado y modificado de: Rouger y col, 1983; Nieto R.A., 2006; Arbeláez, 2009

Sistema Duffy

El sistema Duffy se encuentre en la clasificación 008 de la ISBT. El gen FY se encuentra ubicado en el brazo largo del cromosoma 1, en la posición q22-q23 se trata de una glicoproteína transmembrana, la proteína Duffy es N-glucosilada, y la variación del grado de N-glucosilación contribuye a la gama de peso molecular de 35 a 45 kDa, también llamada glicoproteína Duffy (GPD) (Smolarek, Bertrand, Czerwinski, Colin, Etchebest y de Brevern, 2010; Jens, Pagliarini y Novarett, 2005).

Estudios dedujeron la secuencia de aminoácidos de los antígenos Duffy concluyendo que se trataba de una proteína de nueve pases transmembránicos, sin embargo, en 1993 la proteína fue clonada demostrando la presencia de siete dominios transmembranales, sugiriendo una topología con dominio amino-terminal extracelular, y un carboxilo-terminal citoplasmático (Figura 2) (Brevern, Wong, Tournamille, Colin, Le Van Kim y Etchebest 2005; Rot y Horuk, 2009). El N-terminal de la proteína Duffy comprende 60 aminoácidos, (Jens E y cols., 2005) suficientes para la interacción con el P. vivax y P. knowlesi; sin embargo, no es suficiente para la unión de quimiocinas ya que se ha demostrado una asociación de los cuatro

dominios extracelulares a través de enlaces disulfuro además de que se sabe que Fy-nulo puede unirse a CXCL-8. (Brevern y col, 2005).

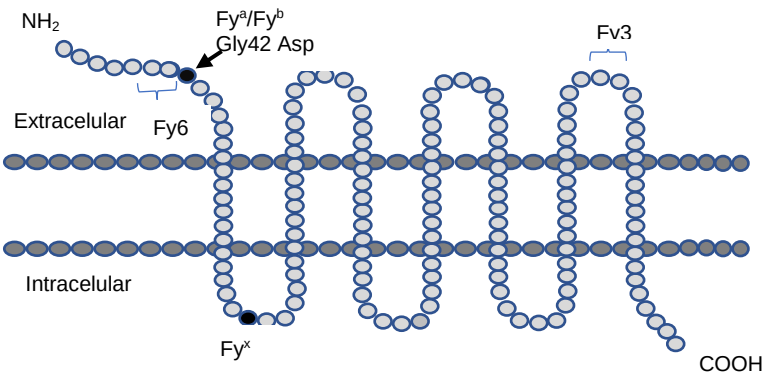


Figura 2: Estructura de la proteína DARC (Antígeno Duffy receptor de quimiocinas), muestra topología de 7 dominios transmembranales, además de la localización de cambio de aminoácido para Fya y Fyb, localización de Fy3 y Fy6, y cambio de aminoácido para Fy^x.

El sistema Duffy presenta 6 antígenos (Tabla 2): Fy^a, Fy^b, FY3, FY4, FY5, FY6 que pueden ser detectados en células fetales entre la semana 6 y 7 de gestación. Los antígenos Fy^a y Fy^b son codificadas por dos formas alélicas del gen *AF*, los alelos *FYA* y *FYB* difieren en la sustitución de una base nitrogenada en el nucleótido 125; para el alelo *FYA*, la base es guanina (G) mientras que para el alelo *FYB* la base es adenina (A), Esta sustitución se localiza en el dominio N terminal de la proteína lo que conduce a la identificación de los fenotipos Fy(a+b-), Fy(a-b+), Fy (a+b+) y Fy(a-b-), además de diferenciarse en el residuo 42 o 44, para Fy^a se encuentra glicina (Gly) y acido aspártico (Asp) para Fy^b, (figura 2). (Jens y cols, 2005; Canle, 2013; Asok, 2004; Howes, Patil y col, 2011). Los antígenos Duffy se encuentran ampliamente expresados en células de riñón, bazo, corazón, pulmón, músculo, duodeno, páncreas, placenta, cerebro, intestino, glándula tiroides y las células de Purkinje del cerebelo. Masouredis y col demostraron que los eritrocitos Fy(a+b-) y Fy(a-b+) tienen entre 13.000 a 14.000 sitios antigénicos respectivamente, y los eritrocitos Fy(a+b+) tienen la mitad del número de sitios Fya que en los eritrocitos de fenotipo Fy(a+b-) (Jens y col, 2005).

	Duffy	Fy^a	Fy^b	Fy3	Fy4	Fy5	Fy6
Símbolo	FY	FY1	FY2	FY3	FY4	FY5	FY6
Numero	FY	FY1	FY2	FY3	FY4	FY5	FY6
Anticuerpo		anti-Fya	anti-Fyb	anti-Fy3	anti-Fy4	anti-Fy5	anti-Fy6
Fenotipo	Fy	Fy(a+b-)	Fy(a-b+)	Fy(a-b-)			

Tabla 2: Antígenos del sistema Duffy. La tabla muestra el símbolo, numero, anticuerpo y fenotipo de 6 antígenos del sistema Duffy

En 1950 Cutbush describe un nuevo anticuerpo en el suero de una paciente hemofílica poli transfundida y es denominado anti-Fya (Duffy) debido a que se encontró en la señora Duffy (Suardíaz y col, 2004). Un año después Ikin describe el anticuerpo anti-Fyb, que define el par antitético del antígeno Fya en el suero de una mujer multípara; posteriormente es identificada una variante del antígeno Fyb que se denomina Fyx, y solo puede ser detectada por sueros anti-Fyb muy potentes. (Qun, 2009; Canle, 2013). En 1955 Sanger describe el fenotipo Fy(a-b-) caracterizado por la ausencia de los antígenos Fya y Fyb estudios familiares serológicos sobre la transmisión llevaron a admitir la existencia de un alelo Fy, recesivo para Fya o Fyb y sin expresión antigénica. En 1971 Albrey y col encontraron en el suero de una mujer de fenotipo Fy(a-b-) un anticuerpo al que denominaron anti-Fy3 reaccionaba con eritrocitos Fy(a+b-), Fy(a+b+), Fy(a-b-), pero no aglutinaba con eritrocitos Fy(a-b-), fue por tal motivo que consideraron antígeno Fy3 y se sabe que podría ser sustancia precursora necesaria para la formación de los antígenos Fy^a y Fy^b. (Asok, 2004; Geoff, 2013)

Hasta 1975 se observó que los individuos con fenotipo Fy(a-b-) mostraron resistencia a Plasmodium vivax y P. knowlesi agentes etiológicos de la malaria, debido a que la invasión del patógeno en las células requiere de al menos uno de los antígenos Fy^a o Fy^b para poder infectar (Miller, Mason y col,1975). Sin embargo, individuos Fy(a-b-) que no producen antígeno Duffy en sus eritrocitos, pero expresan en otras células, las responsables de la expresión de Duffy en estos tejidos son las células endoteliales que revisten las vénulas post-capilares, excepto

en el cerebro, donde la expresión Duffy se encuentran en las células de Purkinje. (Dean, 2005; Jens y col, 2005)

En 1991, Darbonne y colaboradores encontraron un nuevo receptor de quimiocinas en los eritrocitos con alta afinidad a la IL-8 y MCP-1 (Proteína Quimiotatica de Monocitos). Estudios posteriores demostraron que se trataba de la glicoproteína Duffy, a la que llamaron Antígeno Duffy receptor de quimiocinas (DARC). (Geoff, 2013; Dean, 2005; Jens y cols, 2005)

Los fenotipos Fy^a, Fy^b y Fy3 se consideran clínicamente importantes debido a que los anticuerpos anti-Fya y anti-Fyb pueden causar reacciones transfusionales inmunológicas y/o enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) generalmente no conducen a una morbilidad significativa y presentan baja frecuencia. Los anticuerpos Anti-Fya y anti-Fyb son predominantemente anticuerpos de tipo IgG1. (Esquivel y Contreras 1997; Jens y cols, 2005). En una serie de estudios, Szymanski y colaboradores encontraron que el 57% de los anticuerpos anti-Fy son del subtipo IgG1, el 18% subtipo IgG2 y solo un 25% anticuerpos clase IgM (Jens y cols, 2005). El anti-Fya se produce por sensibilización mediante transfusión sanguínea o embarazo y no es de origen natural. Existen estudios donde se demuestra que los diferentes grupos étnicos tienen diferente distribución de los fenotipos de grupo sanguíneo Duffy y diferente morbilidad mostrando una relación con la incidencia del cáncer de mama. Un estudio realizado demostró que el DARC condujo a la inhibición de la tumorogénesis. (Liu, Lian-fang, Zhou-luo, Rong, y Zhi-min, 2012)

La frecuencia fenotípica encontrado para el sistema de grupo sanguíneo Duffy se encuentran con mayor porcentaje en caucásicos el fenotipo Fy(a+b) y menor Fy(a-b-) lo contrario en negros y chinos. (Jens y cols, 2005, Dean, 2005)

	CAUCÁSICOS	**NEGROS**	**CHINOS**
Fy(a+b-)	20 %	9-10%	91 %
Fy(a-b+)	32%	20- 22 %	<1%
Fy(a+b+)	48	1-3 %	9 %
Fy(a-b-)	Muy raro	65 - 70 %	Muy raro

Tabla 3: frecuencia fenotípica del sistema Duffy. La tabla muestra la distribución antigénica del sistema Duffy en diferentes poblaciones.

Otros sistemas sanguíneos.

En la actualidad la ISBT refiere que existen 36 sistemas antigénicos, a los que se les ha asignado una clasificación numérica, nombre y símbolo del sistema, nombre del gen o genes, localización cromosómica, numero de CD (cluster of differentiation).

ISBT Nº	Sistema	Símbolo ISBT	Gen	Localización cromosómica	No. de CD
001	ABO	ABO	ABO	9q34.2	
002	MNS	MNS	GYPA, GYPB, (GYPE)	4q31.21	CD235a CD235b
003	P1PK	P1PK	A4GALT	22q13.2	CD77
004	Rh	RH	RHD, RHCE	1p36.11	CD240
005	Lutheran	LU	BCAM	19q13.2	CD239
006	Kell	KEL	KEL	7q33	CD239
007	Lewis	LE	FYT3	19p13.3	
008	Duffy	FY	ACKR1	1q21-q22	CD234
009	Kidd	JK	SLC14A1	18q11-q12	
010	Diego	DI	SLC4A1	17q21.31	CD233
011	Yt	YT	ACHE	7q22	
012	Xg	XG	XG, MIC2	Xp22.32	CD99†
013	Scianna	SC	ERMAP	1p34.2	
014	Dombrock	DO	ART4	12p13-p12	CD297
015	Colton	CO	AQP1	7p14	
016	Landsteiner-Weiner	LW	ICAM4	19p13.2	CD242
017	Chido/Rodgers	CH/RG	C4A, C4B	6p21.3	
018	H	H	FUT1	19q13.33	CD173
019	Kx	XK	XK	Xp21.1	
020	Gerbich	GE	GYPC	2q14-q21	CD236

0**21**	Cromer	CROM	CD55	1q32	CD55
0**22**	Knops	KN	CR1	1q32.2	CD35
0**23**	Indian	IN	CD44	11p13	CD44
0**24**	Ok	OK	BSG	19p13.3	CD147
0**25**	Raph	RAPH	CD151	11p15.5	CD151
0**26**	John Milton Hagen	JMH	SEMA7A	15q22.3-q23	CD108
0**27**	I	I	GCNT2	6p24.2	
0**28**	Globoside	GLOB	B3GALNT1	3q25	
0**29**	Gill	GIL	AQP3	9p13	
030	Rh-associated glycoprotein	RHAG	RHAG	6p12.3	CD241
031	FORS	FORS	GBGT1	9q34.13-q34.3	
032	JR	JR	ABCG2	4q22.1	CD338
033	LAN	LAN	ABCB6	2q36	
034	Vel	VEL	SMIM1	1p36.32	
035	CD59	CD59	CD59	11p13	CD59
036	Augustine	AUG	SLC29A1	6p21.1	

Tabla 4: Tabla de sistemas de grupos sanguíneos ISBT. Tomado de base de datos de ISBT

Sistema Rh

El sistema sanguíneo Rh es uno de los sistemas más complejos y conocidos en los seres humanos por la participación frecuente en enfermedad hemolítica neonatal. (Dueñas, 2003; Dean, 2005). En 1940 Landsteiner y Wiener en sus experimentos inmunizaron cobayas y conejos con los glóbulos rojos de monos Rhesus, el anticuerpo producido por estos animales aglutinó el 85% de los glóbulos rojos humanos debido a la presencia del antígeno Rh en la membrana eritrocitaria. (Race, 1951; Suardíaz y col, 2004; Baptista, 2005). A principios de 1944, Fisher mostró que tres pares de antígenos alelomorfos (Cc, Dd y Ee) eran responsables de los grupos Rh. (Race;1951).

La complejidad de los antígenos de grupos sanguíneos Rh comienza con los genes, RHD y RHCE que son altamente polimórficos codifica al antígeno Rh y se expresan como parte de un complejo de proteínas en la membrana del eritrocito, este complejo sólo se expresa en células de la línea eritroide. (Dean, 2005; Baptista, 2004). Las nomenclaturas más usadas es la de Fisher-Race (CDE) y la nomenclatura de Wiener (Rh-hr) que considera los dos genes principales y sus alelos en un mismo locus en terminología de haplotipos; CDE, CDe, cDE, cDe, CdE, Cde, cdE, cde, sin embargo, Rosenfield propuso una nomenclatura numérica adoptada por la ISBT (Suardíaz y col, 2004; Aguirre, 1952).

Fisher-Race	Wiener	Rosenfield
D	Rho	RH 1
C	rh'	RH 2
E	rh''	RH 3
d	hr_o	- - - -
c	hr'	RH 4
e	hr''	RH 5

Sistema Kell

El antígeno Kell fue descrito por Coombs en 1946 en una puérpera cuyo hijo estuvo afectado por EHRN, actualmente el sistema está compuesto por 24 antígenos (Miale,1985; Suardíaz y col, 2004.) Existen 2 antígenos importantes: K y k (Kell y Cellano, respectivamente), que se diferencian por un único aminoácido. El antígeno k es más común que el antígeno K en la mayoría de las poblaciones, el fenotipo (K-k+) se encuentra en el 98% de los negros y el 91% de los caucásicos. (Dean, 2005; Baptista,2015).

El anticuerpo anti-K es sumamente peligroso quizás más peligroso que el anti-Rh, es causante de RHT y EHRN (reacción hemolítica transfusional y reacción hemolítica del recién nacido) suprimiendo la producción fetal de glóbulos rojos. Los antígenos Kell se expresan en la superficie de los precursores de eritrocitos, y anti-K promueve la destrucción inmune de las células progenitoras tempranas por los macrófagos en el hígado fetal (en lugar de sólo los glóbulos rojos fetales maduros); no es fácil detectar la destrucción de glóbulos rojos inmaduros ya que no contienen hemoglobina ni bilirrubina y no existe la presencia de hemólisis e ictericia en el

recién nacido. Sin embargo, pueden provocar anemias graves e incluso mortales. (Race, 1951; Geoff, 2003)

Sistema Kidd

En 1951 se encontró en el suero de la señora Kidd quien también tenía anti-K, después de que causo EHRN en su sexto hijo, a este nuevo anticuerpo se le denomino Jk^a. Dos años más tarde se describió el anti-Jk^b en una paciente con una reacción pos-transfusional hemolítica. (Suardíaz y col, 2004; Mitra, 2014). La glicoproteína Kidd tiene la función de transportador de urea de glóbulos rojos está situado en la membrana lo cual ayuda a transportar rápidamente urea dentro y fuera para el mantenimiento de la estabilidad osmótica y la forma celular; la glicoproteína Kidd también se encuentra en riñones, donde hay una alta concentración de urea (24-28 g/L) para la producción de orina 20 a 35 gr/24 h. (Dean, 2005; Westhoff y Reid, 2004). Existen 4 genotipos de Kidd: Jk (a+b-), Jk (a-b+), Jk (a+b+) y Jk (a-b-) que dan lugar a 4 fenotipos Jk^a, Jk^b, Jk^{ab} y Jk. Los anticuerpos anti-Jk son causantes de RHT y EHRN. (Suardíaz y col, 2004; Dean, 2005)

Sistema Lewis

Se sabe que la síntesis de los antígenos Lewis depende del gen FUT2 y FUT3 que codifica a la fucosiltransferasa transformando la sustancia H del sistema ABO en sustancia Le, los antígenos se expresan en los glicoesfingolípidos y son adsorbidos del plasma a los eritrocitos (Suardíaz y col, 2004; González, 2005; Coombs, 2009). Los anticuerpos anti-Le^a y anti-Le^b son anticuerpos naturales de la clase IgM, la temperatura óptima de reacción es la temperatura ambiente, aunque algunos anti- Le^a pueden reaccionar a 37ºC. Es un sistema de antígenos solubles abundantes en el plasma que se adhieren a los glóbulos rojos por adsorción, motivo por el que los neonatos son transitoriamente de fenotipo Le (a-b-); los anticuerpos del sistema no provocan EHRN. (Suardíaz y col, 2004; González, 2005)

Sistema MNS

El sistema MNS fue el segundo grupo sanguíneo descubierto por Landsteiner y Levine, en 1927. Años después en 1947 se describe por primera vez el antígeno S y actualmente se compone de más de 43 antígenos distintos. (Race, 1951; Suardíaz y col, 2004; Dean, 2005; Reid, 2009). Los antígenos del sistema MNS se desarrollan antes del nacimiento y se encuentran expresados en la membrana de glóbulos rojos en la glicoforina A (GPA), glicoforina B (GPB), o en ambas, además de estar presentes también en el endotelio de riñón y el epitelio (Dean, 2005; Palacajornsuk, 2006).

Estos anticuerpos son generalmente de la clase IgM e IgG; los anticuerpos anti-M y anti-N carecen de importancia clínica debido a que se consideran anticuerpos fríos es decir reaccionan a temperaturas de 4ºC a 27ºC en ocasiones generan reacción transfusional, están asociados a RHT y EHRN (Luna, 2005). Su relación con las enfermedades no está bien definida, sin embargo, se atribuye al fenotipo NS cierta protección frente a la bronquitis crónica en fumadores moderados. Igualmente, resta por confirmar el papel del sistema MNS en la hipertensión arterial. (González., 2005)

Sistema Diego

El antígeno Di fue denominado banda 3 o proteína del canal de aniones (AE1 o aniones changer) se encuentra en la membrana de glóbulos rojos; esta proteína ayuda al intercambio de cloruro / bicarbonato implicados en el transporte de dióxido de carbono desde los tejidos a los pulmones; además, aporta estabilidad por su interacción con la anquirina y la espectrina del citoesqueleto eritrocitarios (Dean, 2005; González 2005). También se encuentra en el riñón participando en la secreción de ácido. El primer anticuerpo anti-Di^a del sistema fue descrito en 1955 por Levine en una paciente que había dado a luz a un niño afectado de EHRN, se encontró el suero de la paciente durante el embarazo debido a que había cruzado la placenta para atacar a los glóbulos rojos de su feto que expresaban el antígeno Di^a. En 1967 se describió el segundo antígeno Di^b. (Dean, 2005; González, 2005). El anti-Di^a puede ocasionar EHRN y/o RHT y el anti-Di^b es poco frecuente, pero de importancia clínica. (Dean, 2005; González, 2005)

Sistema Lutheran

Callender (1945) describe el primer anti-Lu^a en un receptor de múltiples transfusiones llamado Lutheran. Se conocen 2 antígenos principales: Lu^a o Lu^b, en 1961 Crawford y colaboradores describieron el fenotipo Lu(a-b-) (Miale J.B., 1985; Suardíaz y col, 2004; González, 2005). Los antígenos de este sistema dependen de la expresión del gen LU, este cromosoma es de carácter dominante y codifican la glucoproteína Lutheran. La expresión de los antígenos depende de un polimorfismo localizado en el aminoácido 77 (His*Arg). (González, 2005; Race, 1951; Ferrato 2012). El número de sitios antigénicos aproximadamente es de: Lua 600 a 1600 y Lub 1400 a 3800. A los antígenos Lua y Lub se les atribuye la EHRN. (Suardíaz y col, 2004).

Transfusión y compatibilidad

La terapia transfusional brinda apoyo a los pacientes que tienen un déficit de sangre provocado por algún traumatismo o proceso patológico que conlleva a una pérdida crónica de sangre o la falta total de producción de células sanguíneas. (Carlos y Zepeda, 1981; Luna, 2007). Una transfusión compatible es aquella que no presenta reacción inmune entre antígenos (Ag) y anticuerpos (Ac) de donante y receptor, la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012 Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos, no garantiza identidad entre donador y receptor solamente indica que en ese momento no habrá disminución de rendimiento transfusional por causa inmune. (Jaime y col, 2009).

La transfusión de algún componente sanguíneo es considerado uso terapéutico por lo que su compatibilidad es indispensable para los sistemas ABO y sistema Rh (D), en la mayoría de los casos los pacientes reciben sangre de su mismo grupo sanguíneo, sin embargo, se han denominado donador universal (O-) a las personas que pueden donar a cualquier persona y receptor universal (AB+) a las personas que pueden aceptar sangre de cualquier grupo sanguíneo, Tabla 5. (Moyado y col, 2004). La compatibilidad ABO es importante no solo en la transfusión

de sangre, sino también en el trasplante de células, tejidos y órganos (Arbeláez, 2009)

Tabla 5: Compatibilidades transfusionales entre grupo sanguíneo del sistema ABO. Tomado y modificado de: Component compatibility. Australian Red Cross Blood Service. Updated on 22 March, 2016

Reacciones pos-transfusionales

La transfusión de algún componente sanguíneo conlleva un alto riesgo de complicaciones para el receptor, por lo que pueden presentarse una serie de efectos adversos inmediatos o tardíos producidos por mecanismos inmunológicos o no inmunológicos, pueden presentarse inmediatamente o durante las primeras 24 horas tardíos si se observan después de 24 horas, Tabla 6. Existe evidencia que algunas de estas reacciones pueden atribuirse a la presencia de leucocitos en la sangre del donante por lo que se recomienda el uso de componentes sanguíneos leucodepletados, otros reportes de reacciones son por una incompatibilidad de grupo sanguíneo entre el receptor-donante, además existe el riesgo como consecuencia de contaminación de los hemoderivados por virus, bacterias o

parásitos, ya sea que el donante curse con una infección, por una mala técnica en la obtención de la sangre y/o de sus componentes, un error en la determinación de pruebas serológicas por el laboratorio y la mala manipulación durante la preparación para la transfusión.(Vázquez, 2002; Luna, 2007)

En resumen, la mayoría de las reacciones hemolíticas autoinmunes son secundarias a incompatibilidad con el sistema ABO, pero pueden asociarse también los antígenos Lewis (Le^a), Kidd (Jk^a y Jk^b) y Kell (K), Duffy, S y s del sistema MNS. (Bravo,2010)

Tabla 6: Clasificación de reacciones transfusionales

	Inmediatos o agudos	Tardíos
Inmunológicos	a) Reacción hemolítica b) Reacción febril no hemolítica c) Reacción alérgica: anafiláctica, urticaria, d) Daño pulmonar agudo asociado a la transfusión (TRALI).	a) Aloinmunizacion contra eritrocitos, leucocitos, plaquetas y/o proteínas plasmáticas. b) Hemólisis c) Enfermedad injerto contra huésped (EICH) d) Púrpura pos-transfusión
No inmunológicos	a) Choque séptico b) Insuficiencia cardiaca congestiva c) Hemólisis no inmune: mecánica, térmica u osmótica d) Embolia: aérea o por partículas (pequeños coágulos) e) Hipotermia f) Desequilibrio electrolítico: hipomagnesemia, hipocalcemia, hiperpotasemia g) Coagulopatía	a) Hemosiderosis. b) Transmisión de enfermedades: virales, bacterianas y/o parasitarias.

Clasificación de reacciones transfusionales inmunológicas y no inmunológicas; inmediata o tardía. Tomado y modificado de: González Luna J, 2007

Objetivos

General

Cuantificar la importancia de realizar los sistemas sanguíneos ABO y DUFFY, en muestras de pacientes y donadores atendidos por el centro estatal de transfusión sanguínea (CETS) de los servicios de salud del estado de Puebla en el periodo de octubre 2017 a enero 2018

Particulares

- Determinar la frecuencia de los grupos sanguíneos ABO, tipificando los subgrupos de A y B en pacientes y donadores atendidos en el CETS
- Establecer la frecuencia del grupo sanguíneo DUFFY en pacientes y donadores atendidos en el CETS
- Comparar el fenotipo DUFFY encontrado en diferentes estudios estadísticos con lo obtenido en la población estudiada de pacientes y donadores del CETS
- Cuantificar la prevalencia de los sistemas sanguíneos ABO y DUFFY, en muestras de pacientes y donadores atendidos CETS
- Valorar la compatibilidad ABO y DUFFY de las unidades transfundidas a pacientes atendidos en el CETS
- Analizar la compatibilidad antigénica entre donador y receptor de las solicitudes de transfusión en el CETS
- Estimar los genotipos más probables para los sistemas antigénicos DUFFY
- Analizar la compatibilidad en base a lo establecido por la norma

Planteamiento del problema

En el área de salud pública y privada existe una gran demanda de solicitudes de hemocomponentes, este proceso está regulado en la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012 Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. En la que se establece un apartado para evitar la sensibilización frente a anticuerpos irregulares, sin embargo en la práctica diaria no se realiza el rastreo de anticuerpos irregulares por causas como bajo presupuesto, falta de tiempo y personal, llegando a que la compatibilidad transfusional suele basarse solamente en los sistemas ABO y Rh (D),no tomando en cuenta otros sistemas antigénicos que pueden causar reacciones transfusionales tempranas o tardías, ¿Por qué en la prueba de compatibilidad y la práctica transfusional actuales no se considera la similitud de identidad antigénica entre el donador y receptor?

Justificación

Considerando que la terapia transfusional busca el mayor beneficio antes que un daño para el receptor, es de suma importancia para instituciones del sector salud públicas y privadas incorporar información y técnicas que reduzcan el riesgo de reacciones transfusionales por incompatibilidad en pacientes, así como reducir eventos transfusionales que promuevan la generación u aparición de anticuerpos contra uno o más sistemas antigénicos de importancia clínica, que además de sensibilizar a los pacientes en un determinado periodo ocasionan problemas de asignación de unidades compatibles en futuros eventos transfusionales que el paciente pueda presentar, arrastrando con esto el aumento del número de pruebas clínicas, pruebas de compatibilidad masiva para la obtención de unas cuantas unidades compatibles, periodos largos para el estudio de laboratorio que ponen en riesgo la vida del paciente ante eventos críticos de respuesta inmediata que no pueden ser atendidos y el claro aumento económico por costos. Considerando todo lo anterior es de vital importancia realizar los estudios para la obtención de un panorama de distribución antigénica en el estado de puebla, debido a que las referencias apuntan a una amplia variabilidad de distribuciones antigénicas en subregiones hecho que genera incertidumbre a la hora de buscar unidades compatibles y con similitud antigénica para pacientes que así lo requieren.

Hipótesis

Afirmativa

La presencia fenotípica de los sistemas ABO y DUFFY en donadores y receptores disminuye el riesgo de inmunosensibilización del receptor en la práctica transfusional de hemocomponentes.

Nula

La presencia fenotípica de los sistemas ABO y DUFFY en donadores y receptores aumenta el riesgo de inmunosensibilización del receptor en la práctica transfusional de hemocomponentes.

Diseño de la investigación

Tipo de estudio:

Prospectivo, transversal, observacional, analítico

Universo de trabajo:

Se analizarán 500 muestras entre pacientes y donadores atendidos por el Centro Estatal de Transfusión Sanguínea de los servicios de salud del Estado de Puebla durante el periodo comprendido de octubre 2017 a enero 2018.

Criterios de inclusión:

Muestras de donadores cumpliendo con los criterios de la NOM-253-SSA1-2012 Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos y pacientes atendidos en el centro estatal de la transfusión sanguínea (CETS)

Criterios exclusión:

Se excluyen las muestras de:

- Donadores con parentesco familiar (hermanos)
- Paciente politransfundidos

Método para el análisis

Estadística descriptiva

Materiales y reactivos

- El usual en el laboratorio.
- Muestras sanguíneas con anticoagulante EDTA de donadores y pacientes
- Reactivos novaclone: anti-A, anti-B, anti-AB, anti-Rh D
- Reactivo: Gamma-clone anti- Fy^a y anti Fy^b
- Reactivo: Gamma-clone Anti-Globulina Humana Anti-IgG, -C3d
- Eritrocitos IgG sensibilizados

- Células de fenotipo Duffy conocidos (control) de la carta panel del hospital siglo XXI

Metodología

Se recolectarán muestras de sangre venosa en tubos con anticoagulante EDTA de pacientes y donadores atendidos en el CETS. Preparar una suspensión eritrocitos de 3-5% en solución salina isotónica amortiguada, para la determinación de la presencia o ausencia de los diferentes antígenos propuestos para los sistemas ABO y Duffy a fin de determinar sus fenotipos.

Escala de interpretación de aglutinación

La evaluación de la prueba arrojara diferentes grados de aglutinación mismos que serán diferenciados en una escala donde; 4+ indican la presencia de aglutinación solida; 3+ de varios aglutinados grandes; 2+ con aglutinados de tamaño medio; 1+ con pequeños aglutinados y “0” la ausencia de aglutinación. (Arbeláez, 2009)

Tipificación del sistema ABO directo

En diferentes tubos de ensayo de 10 x 75 mm rotulados se colocará 1 gota de los reactivos anti-A, anti-B, anti-AB, posteriormente se agregará 1 gota de suspensión de eritrocitos de 3-5% de las muestras problema, homogenizar y centrifugar durante 15 seg a 1100 RPM. Retirar los tubos para la lectura de aglutinación observando la formación de botón o aglutinados mediante agitación suave. Para la interpretación del grado de aglutinación y positividad se empleará la escala de clasificación ya descrita. (Técnica tomada del inserto de reactivos novaclone: anti-A, anti-B, anti-AB)

Tipificación de subgrupos A y B

Después de hacer tipificación de sistema ABO, las muestras de grupo A se deben tipificar en subgrupos de A. Se colocará en diferentes tubos de ensayo rotulados de 2 gotas de reactivo Anti-A1 y Lectina anti-H, posteriormente se agregará a cada tubo 1 gota de suspensión de eritrocitos 3-5%, se dejará reposar 5 min a temperatura ambiente y centrifugará 15 seg a 1100 RPM. Retirar los tubos para la lectura de aglutinación observando la formación de botón o aglutinados mediante agitación suave. Para la interpretación del grado de aglutinación y

positividad se empleará la escala de clasificación ya descrita y se determinara que variante del grupo A es con ayuda de la tabla 3.

Las muestras de grupo B se deben tipificar en subgrupos de B. Se colocará en diferentes tubos de ensayo rotulados de 2 gotas de reactivo Lectina anti-H, posteriormente se agregará a cada tubo 1 gota de suspensión de eritrocitos del 3-5%, reposara 5 min a temperatura ambiente y centrifugar 15 seg a 1100 RPM, se determinará la presencia de aglutinación indicando la presencia de un subgrupo de B este se medirá y determinara que variante del grupo B es con ayuda de la tabla 3. Un resultado de lectina H negativo o sin aglutinación indica la ausencia de un subgrupo de B. (Técnica tomada del inserto de reactivos novaclone: lectina anti-A1, lectina anti-H)

Tipificación del sistema ABO inverso

Centrifugar las muestras sanguíneas a 3500 RPM por 10 min para obtener el plasma. Colocar en diferentes tubos de ensayo rotulados 1 gota de células conocidas A1, A2, B y O, colocar en cada tubo 2 gota de plasma de la muestra, centrifugar a 1100 RPM por 15 seg. Medir el grado de aglutinación e Interpretar con ayuda de la tabla 3. (Técnica tomada del inserto de reactivos novaclone: anti-A, anti-B, anti-AB)

Tipificación del sistema Rh-D

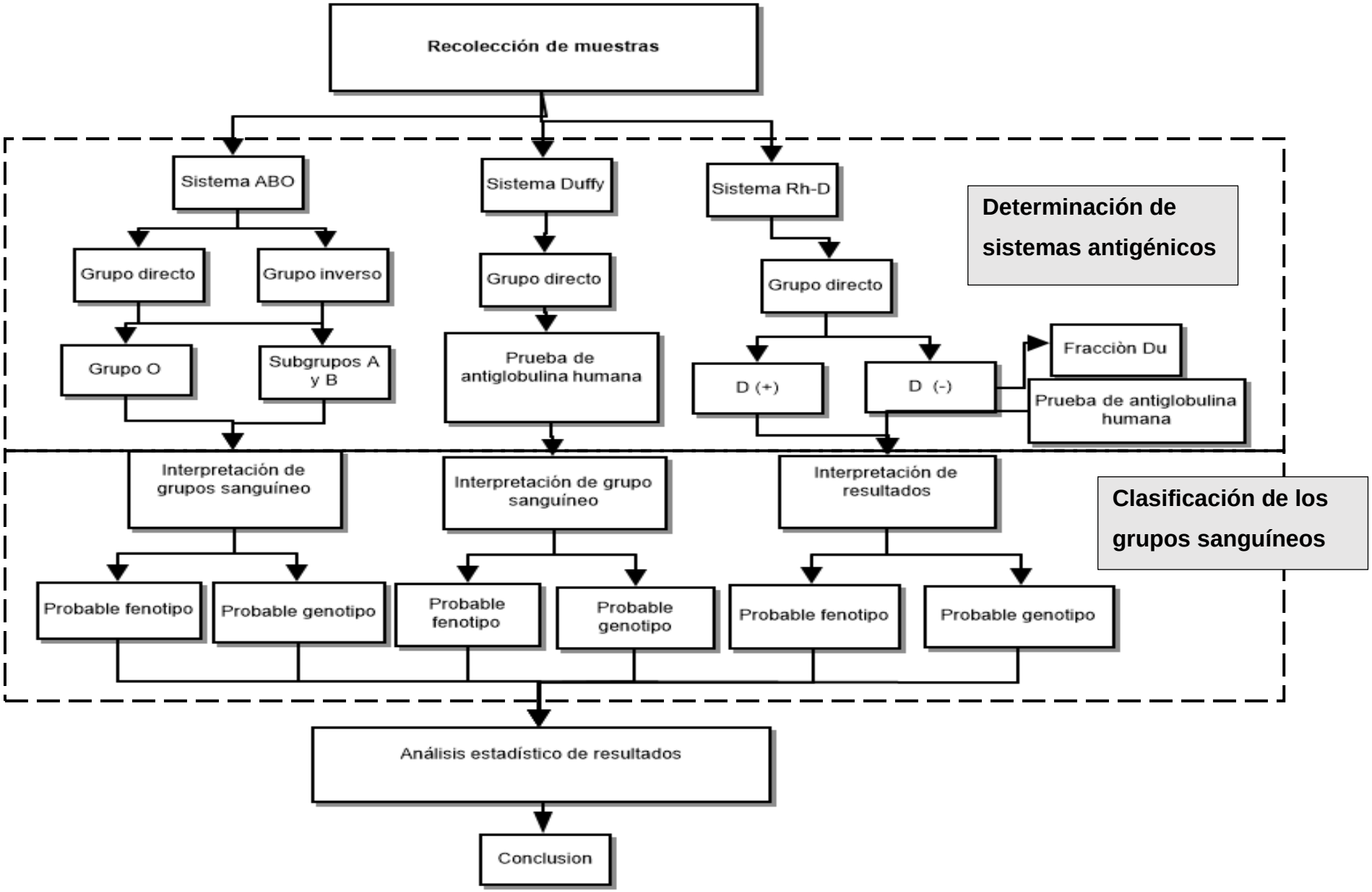
En diferentes tubos de ensayo se colocará 1 gota de los reactivos anti-D, posteriormente se agregará 1 gota de suspensión de eritrocitos del 3-5%, se mezclará homogéneamente y centrifugará durante 15 seg a 1100 RPM. Retirar los tubos para la lectura de aglutinación observando la formación de botón o aglutinados mediante agitación suave. Para la interpretación del grado de aglutinación y positividad se empleará la escala de clasificación ya descrita. Si no existe aglutinación se realiza prueba para fracción débil (Du) incubando por 30 min a 37º C, pasados los 30 min se harán 3 lavados con solución salina, decantando en cada lavado. Posteriormente se agregarán 2 gotas de Anti-Globulina Humana Anti-IgG, -C3d Gamma-clone al botón de eritrocitos lavados. Mezclar homogéneamente el contenido del tubo y centrifugar cada tubo 45 seg a 11000 RPM. Medir el grado de aglutinación. Para finalizar en los tubos que no se formó aglutinación se agregara

1 gota de eritrocitos IgG, se mezclara y centrifugara y observara la aglutinación. (Técnica tomada del inserto de reactivos novaclone: anti-D)

Determinación del sistema Duffy

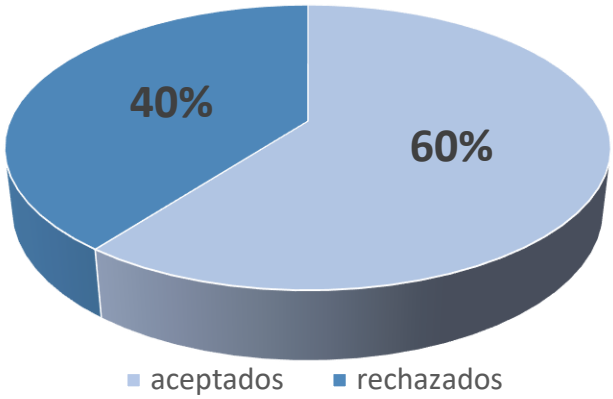
En diferentes tubos de ensayo rotulados se colocará 1 gota de los reactivos anti-Fy^a y anti- Fy^b (monoclonal) Gamma-clone, posteriormente se agregará 1 gota de suspensión de eritrocitos del 3-5%, mezclar homogéneamente e incubar por 30 min a 37º C, pasados los 30 min se harán 3 lavados con solución salina isotónica amortiguada decantando el sobrenadante entre cada lavado. Posteriormente se agregará de 2 gotas Anti-Globulina Humana Anti-IgG, -C3d Gamma-clone al botón de eritrocitos lavados. Se mezclará homogéneamente y reposará durante 5 min a temperatura ambiente, centrifugar cada tubo 45 seg a 11000 RPM. Retirar los tubos para la lectura de aglutinación observando la formación de botón o aglutinados mediante agitación suave. Para la interpretación del grado de aglutinación y positividad se empleará la escala de clasificación ya descrita. Confirmando la presencia o ausencia de los Ag Fy^a/Fy^b para la muestra problema. En los tubos que no se formó aglutinación se agregara 1 gota de eritrocitos IgG sensibilizados se mezclara, centrifugara y observara la aglutinación. (Técnica tomada del inserto de reactivos Gamma-clone anti- Fy^a y anti Fy^b)

DIAGRAMA DE TRABAJO



RESULTADOS

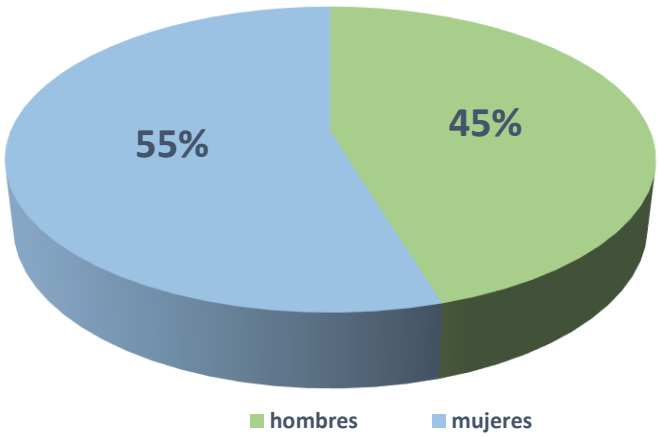
Grafica de aceptados y rechazados según criterios de inclusión y exclusión



Grafica 1: Grafica de pastel, que representa las proporciones porcentuales de muestras de donadores y pacientes aceptadas y rechazadas para el estudio en base a los criterios de inclusión y exclusión. Para el análisis se recolectaron un total de 500 muestras, considerando los criterios de inclusión y exclusión, se obtienen un total de 302 (60%) muestras aceptadas y 198 (40%) de rechazados.

De las muestras aceptadas tenemos:

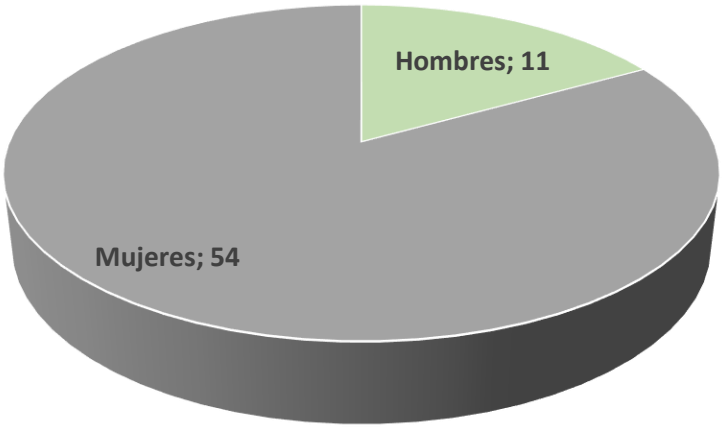
Frecuencia de genero entre pacientes y donadores



Grafica 2: Grafica de pastel donde se representan porcentajes de genero de las 302 muestras analizadas, donde 165 (55%) son mujeres y 137 (45 %) hombres.

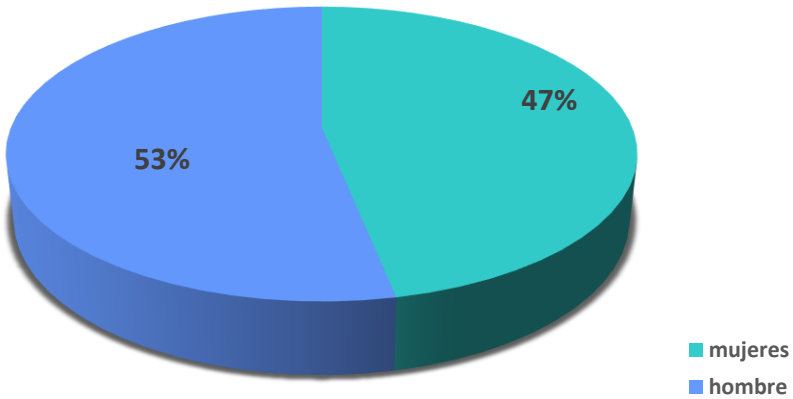
De las cuales

Frecuencia de genero de pacientes con transfusiones



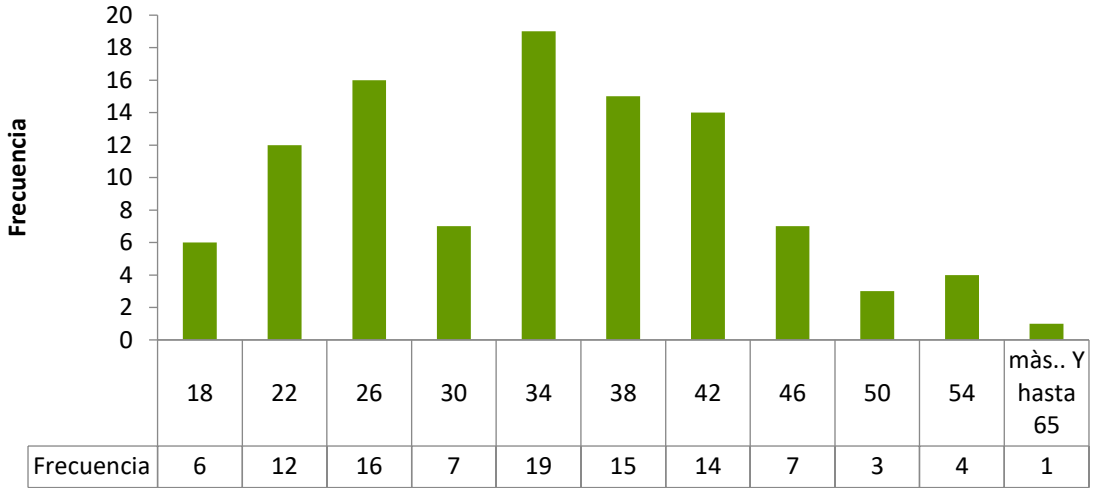
Grafica 3: Grafica de pastel donde observamos que de las muestras analizadas 65 son pacientes de las que el 83% (54) son mujeres y solo un 17% (11) son hombres.

Frecuencia de genero de donadores



Grafica 4: Grafica de pastel que muestra que, de las 302 muestras analizadas, tenemos 237 muestras son donadores donde se observa que los hombres representan un mayor porcentaje en donaciones con 53% (126), a comparación de 47% (111) que corresponden a mujeres.

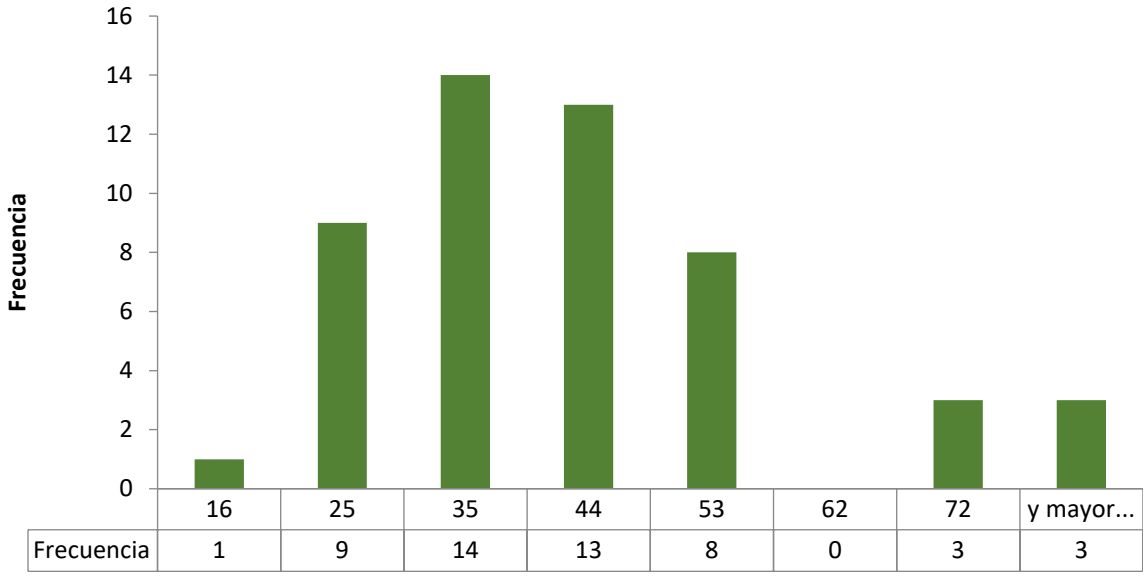
Frecuencia de edad en donadores



	18	22	26	30	34	38	42	46	50	54	màs.. Y hasta 65
Frecuencia	6	12	16	7	19	15	14	7	3	4	1

Grafica 5: Grafica de barras observamos que hay mayor frecuencia de donadores entre los 26, 34, 38, y 42 años

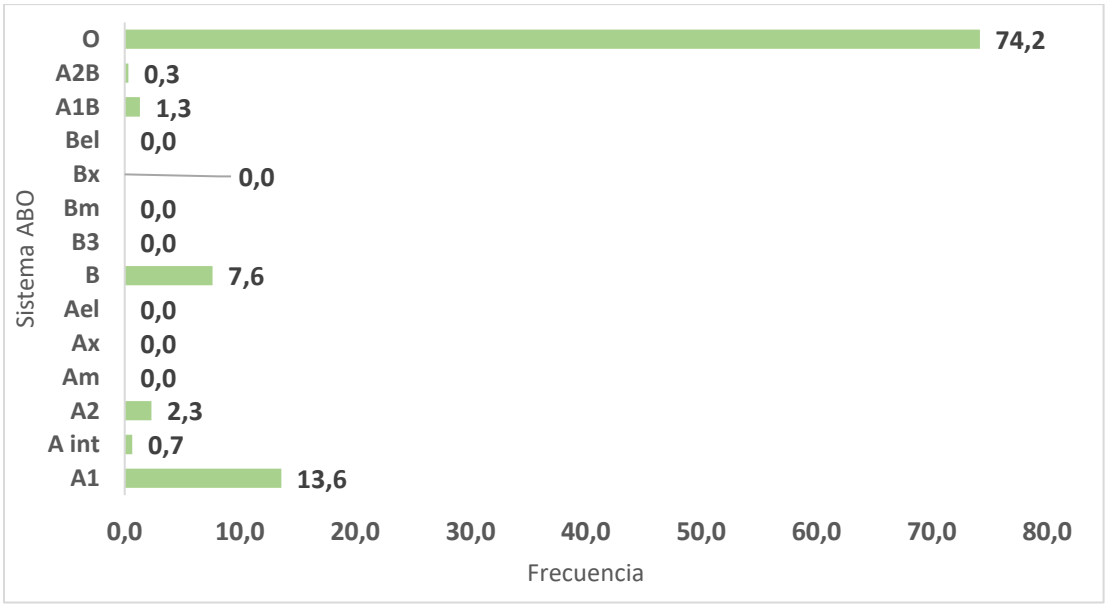
Frecuencia de edad en pacientes



	16	25	35	44	53	62	72	y mayor...
Frecuencia	1	9	14	13	8	0	3	3

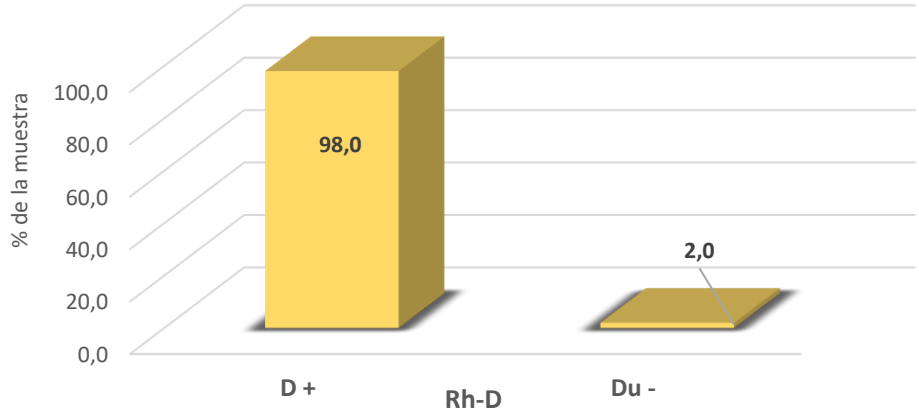
Grafica 6: Grafica de barras donde ese observa que la edad más frecuente para los pacientes que reciben transfusion sanguínea son de 35 años, seguida de 44 años.

Frecuencia de sistema ABO en pacientes y donadores



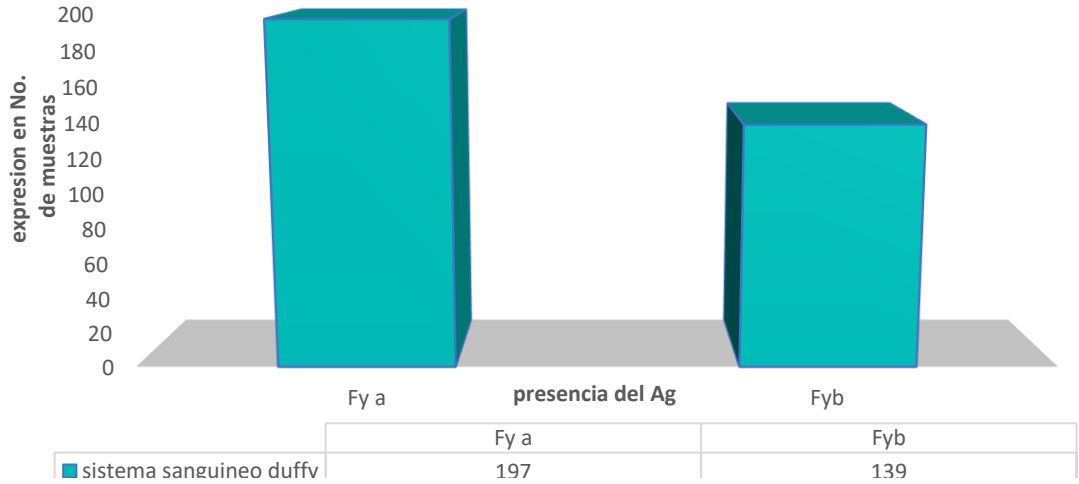
Grafica 7: Grafica de barras donde se representan los resultados obtenidos del análisis de sistema ABO; grupos y subgrupos encontrando mayor frecuencia el grupo sanguíneo O con 74.2%, seguido de A1 con 13.6%, B con 7.6%; A2 con 2.3% A1B con 1.3% y en menor porcentaje el subgrupo de Aint con 0.7%

Frecuencia de sistema sanguíneo Rh- D



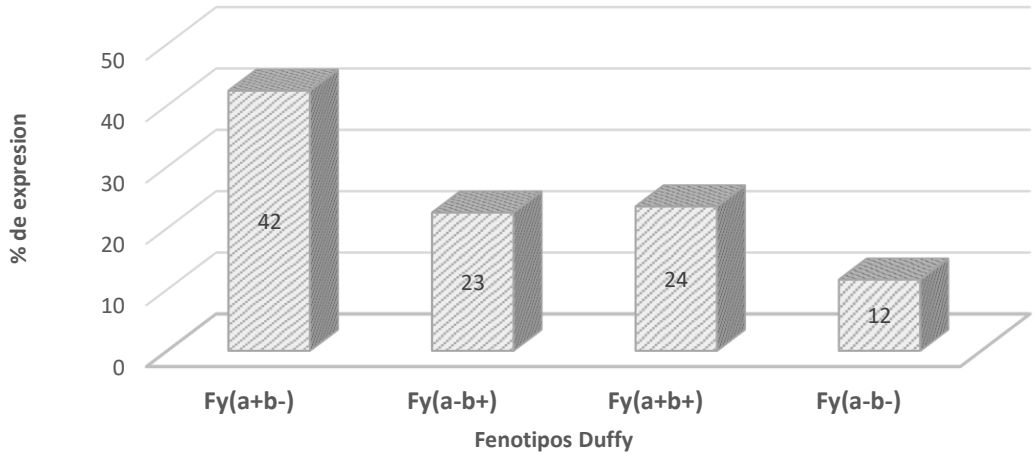
Grafica 8: Grafica de barras se observa que el sistema Rh-D representa mayor frecuencia Rh-D positivo con 98% (296 muestras) y 2% (6 muestras) de Rh-D negativo.

Distribución de la expresión de antígenos del sistema sanguíneo Duffy en pacientes y donadores



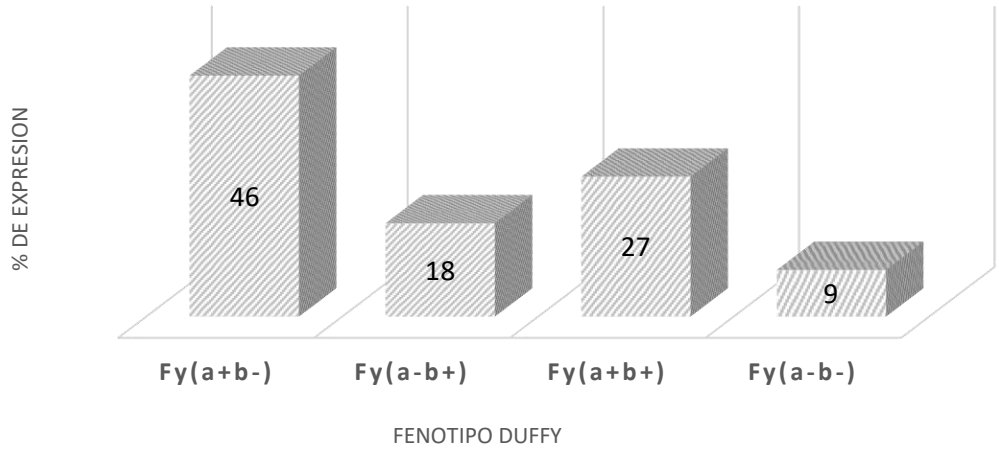
Grafica 9: Grafica de barras de la población estudiada representando la frecuencia de expresión de los antígenos Duffy donde encontramos que el antígeno Fya (197 muestras) se expresa en mayor frecuencia con respecto al antígeno Fyb (139 muestras)

Distribución fenotípica del sistema Duffy



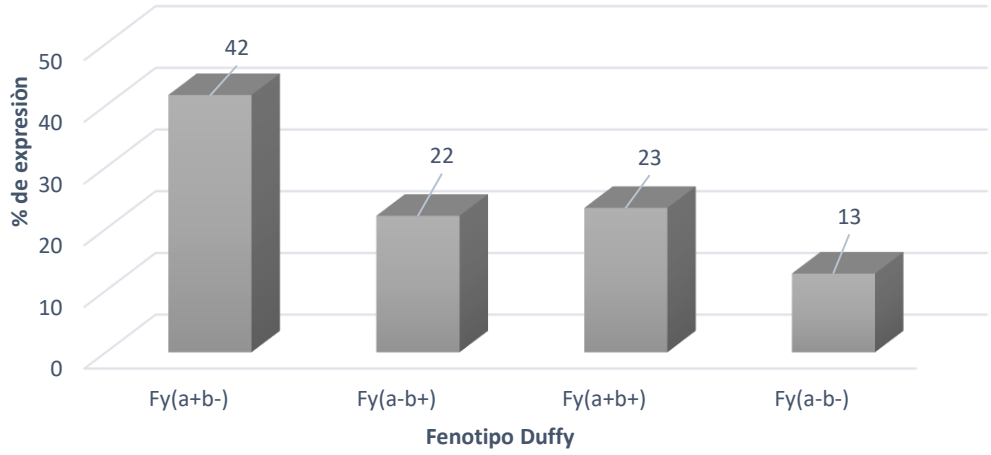
Grafica 10: Grafica de barras que representa la proporción porcentual de los fenotipos Duffy en la población estudiada de pacientes y donadores, teniendo con mayor prevalencia Fy(a+b-) con 44% (128), seguido de Fy (a+b+) con 24% (71), Fy(a-b+) con 23% (68), y Fy(a-b-) con 12% (35)

Distribución fenotípica del sistema Duffy en pacientes



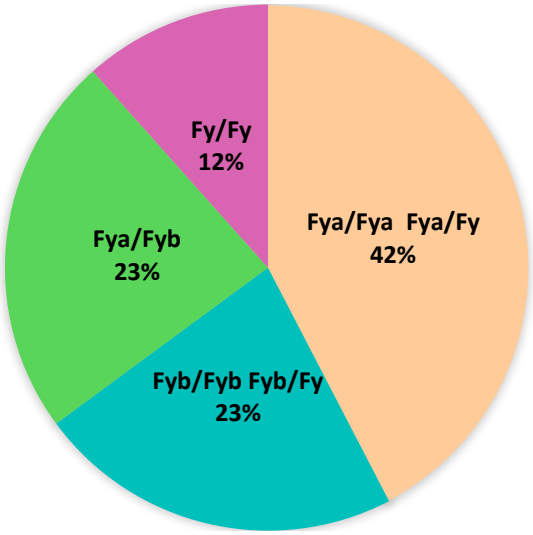
Grafica 11: Gráfica de barras donde se observa que el fenotipo con mayor prevalencia en pacientes es Fy(a+b-) con 46% (31), seguido de Fy (a+b+) con 27% (18), Fy(a-b+) con 18% (12), y Fy(a-b-) con 9% (6)

Distribución fenotípica del sistema Duffy en donadores



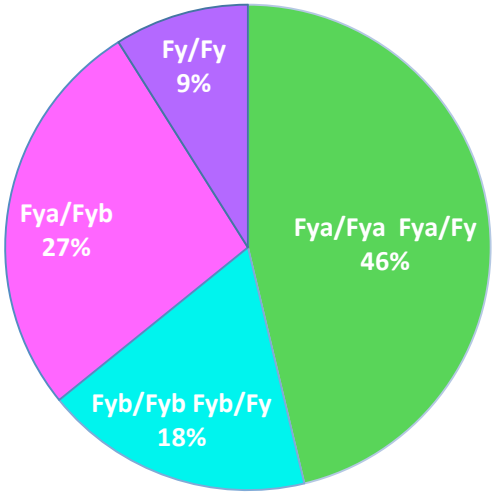
Grafica 12: Grafica de barran donde se observa que el fenotipo con mayor prevalencia en donadores es Fy(a+b-) con 42% (98), seguido de Fy (a+b+) con 23% (55), Fy(a-b+) con 22% (52), y Fy(a-b-) con 13% (30).

Distribución de probable genotipo del sistema Duffy



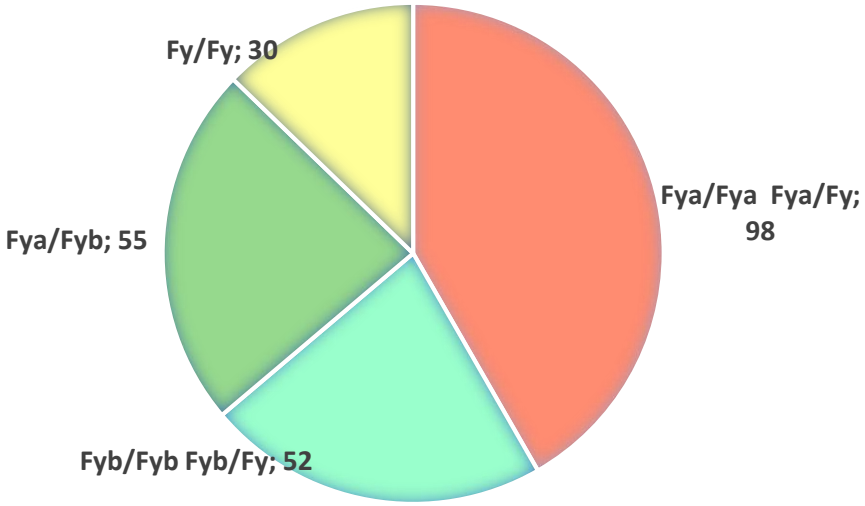
Grafica 13: Grafica de pastel de distribución de probables genotipos de la población estudiad, se representa que para el fenotipo Fy(a+b-) tenemos Fy^a/Fy^a o Fy^a/Fy *con 42%; para el fenotipo* Fy(a-b+) tenemos Fy^b/Fy^b o Fy^b/Fy *con 23%,* para Fy(a+b+) tenemos Fy^a/Fy^b *23%* y para Fy(a-b-) tenemos *Fy/Fy 12%*

Distribución de probable genotipo del sistema Duffy en pacientes



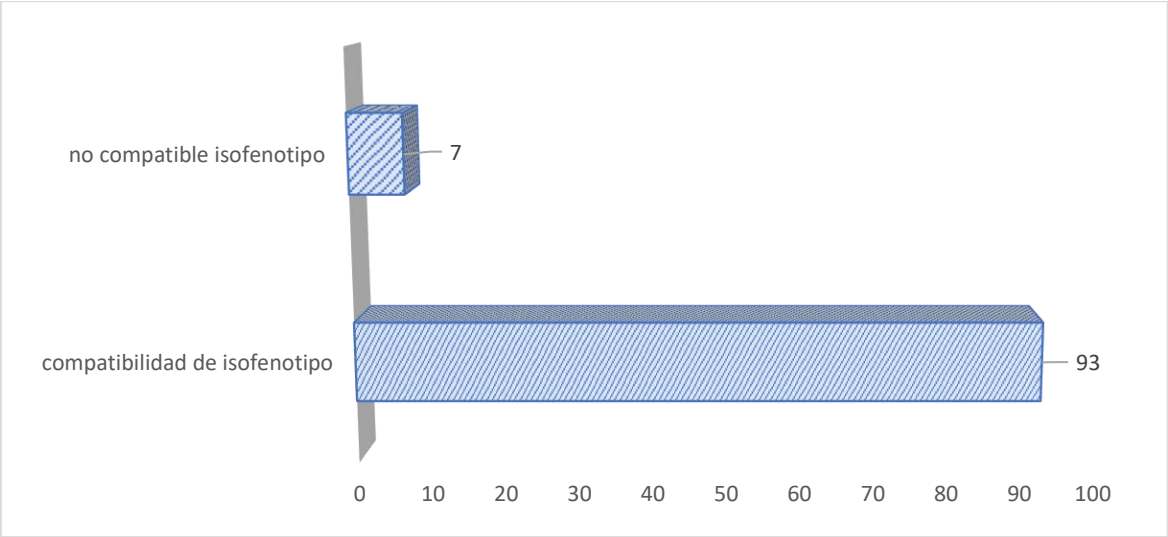
Grafica 14: Grafica de pastel de distribución de probables genotipos en pacientes, para el fenotipo Fy(a+b-) tenemos *Fy^a/Fy^a* o *Fy^a/Fy con 46*%; para el fenotipo Fy(a-b+) *Fy^b/Fy* o *Fy^b/Fy* con 18%, Fy (a+b+) *Fy^a/Fy^b* 27% y Fy(a-b-) *Fy/Fy 9%*

Distribución de probable genotipo del sistema Duffy en donadores



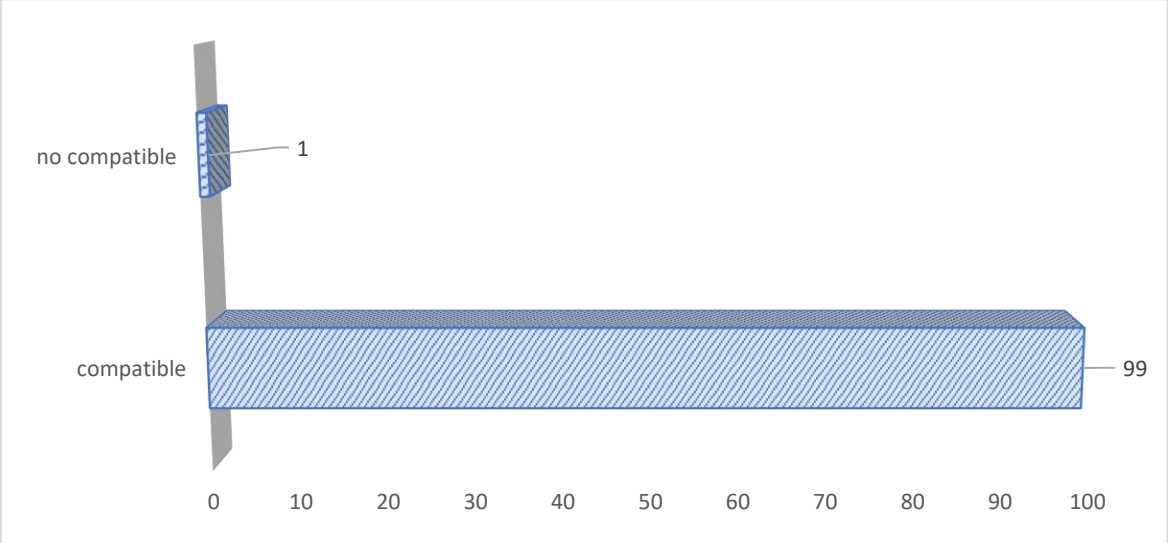
Grafica 15: Grafica de pastel de distribución de probables genotipos para donadores, representando para el fenotipo Fy(a+b-) el genotipo *Fy^a/Fy^a* o *Fy^a/Fy con 42%; para el fenotipo* Fy(a-b+): *Fy^b/Fy^b* o *Fy^b/Fy con 22%,* Fy (a+b+): *Fy^a/Fy^b 23%* y Fy(a-b-) *Fy/Fy: 13%*

Frecuencia de compatibilidad del sistema ABO entre pacientes y donadores



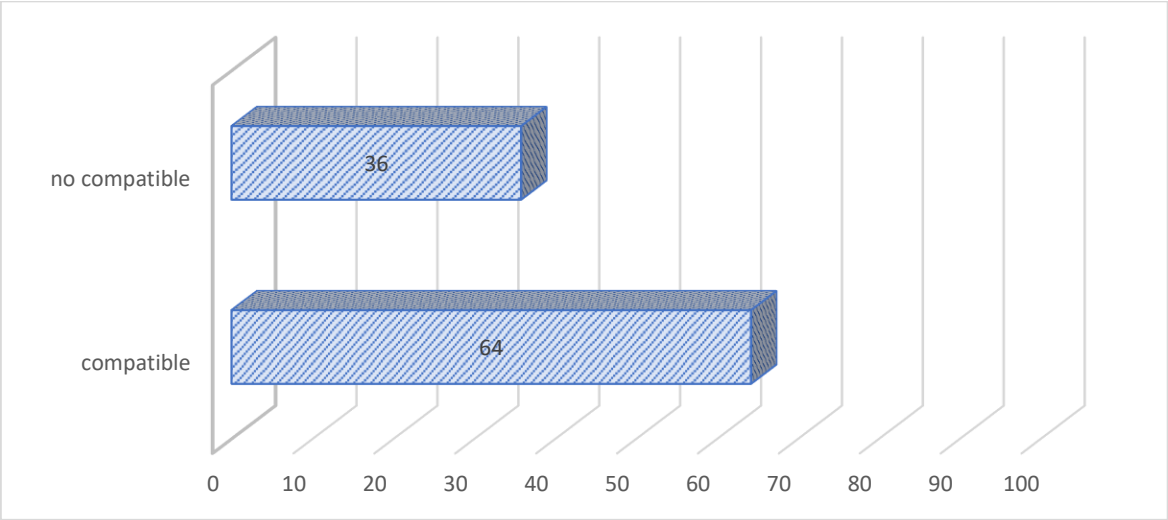
Grafica 16: Grafica de barras, tomando en cuenta los isofenotipos del sistema ABO encontramos que las unidades transfundías son compatibles en un 93% por isofenotipo e incompatibles isofenotipo en un 7 %.

Frecuencia de compatibilidad Rh-D



Grafica 17: Para el sistema Rh-D+ el 99% de unidades transfundidas son compatibles por isofenotipo al sistema RH-D- y solo el 1% incompatible por isofenotipo

Frecuencia de compatibilidad del sistema sanguíneo Duffy entre pacientes y donadores



Grafica 18: Para la compatibilidad del sistema sanguíneo Duffy entre pacientes y donadores observamos que existe una compatibilidad de fenotipos en un 64% e incompatibilidad de fenotipos en un 36%.

Discusión de resultados

Para caracterizar el tamaño de muestra representativa de una población en estudio se realizará mediante el siguiente calculo:

formula estadística usada para calcular número de muestras biológicas:

$$n = \frac{z^2 \times \hat{p}(1-\hat{p})}{\varepsilon^2}$$

dónde
z es el puntaje z
ε es el margen de error
N es el tamaño de la población
p es la proporción de la población

Generando en los últimos 4 años un promedio anual de 21019 donadores captados, y aplicando la formula estadística tenemos:

Nivel de confidencialidad	Intervalo de confianza 8%	Intervalo de confianza 9%	Intervalo de confianza 10%
80 %	64	51	41
90 %	106	84	68
95%	150	118	96
98%	210	167	135
99%	257	204	166
99.9%	415	329	268
99.99%	575	457	372

Para este trabajo se recolectaron 500 muestras, considerando los criterios de inclusión y exclusión tenemos un total de 302 muestras reales la cuales superan el tamaño de muestra establecido por la formula estadística con un nivel de confidencialidad de 99% y 8% de intervalo de confianza.

De los resultados obtenidos con las 500 muestras recabadas obtuvimos un total de 302 muestras a estudiar lo cual representan el 60% de muestras aceptadas 40% rechazados como se observa en la gráfica 1. De las 302 hay entre pacientes y donadores mayor porcentaje mujeres con 55% (165) y 45% (137) hombres grafica

2, y de estas 302 muestras analizadas 65 son pacientes que corresponden a 21.5 % del total de muestras y 237 donadores que son el 78.5% del total de muestras.

Se establece la frecuencia de géneros para pacientes obteniendo como resultado la gráfica 3 donde se representa el 83% mujeres y 17% hombres, observando mayor prevalencia de transfusion en pacientes femeninos, con relación a frecuencias de edad (grafica 6) considerando pacientes hombre y mujeres se obtiene un rango de edad de entre 25 a 44 años con un pico máximo a los 35 años con un total de 14 pacientes.

Respecto a los donadores obtenemos mayor frecuencia donadores hombres con un 53% contra 47% de mujeres representado en la gráfica 4, de los cuales la prevalencia de edad va de los 22 a 26 y de 34 a 42, grafica 5. Se observa una mayor prevalencia en donadores hombres debido a que en repetidas ocasiones las mujeres son rechazadas por causas ginecológicas, o por no cumplir con las características que la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos, establece para la selección de un donador en el apartado 6.

En Latinoamérica se han realizado diferentes estudios sobre la frecuencia y distribución de los grupos sanguíneos, en países como Cuba, Argentina y México entre otros; donde se ha encontrado un predominio del grupo O, seguido del grupo A, y con porcentajes más bajos los grupos B y AB (Pérez R. y col 2010)

Al analizar los resultados obtenidos a partir de la tipificación de grupos y subgrupos del sistema ABO, y en comparación con diferentes autores que han realizado análisis en diferentes estados de la república mexicana como Méndez E. (2004) ; Iturbide P. y col (2013) y Arbeláez (2009) encontramos en mayor porcentaje el grupo sanguíneo O, seguido de A, B y AB lo cual concuerda con lo obtenido, teniendo que el grupo sanguíneo O con 74.2%, A1 13.6%; A2 2.3%, subgrupos A (Aint y A sub) 0.6%, B 7.6% y AB 1.3%, grafica 7. De manera similar para sistema Rh-D, autores que han recabado datos del CETS de diferentes estados y un estudio realizado en el Laboratorio del Banco Central de Sangre Centro Médico Nacional Siglo XXI Instituto Mexicano del Seguro Social. Ciudad de México por Alcázar en 2007

reportan mayor porcentaje la presencia del antígeno D, con un 98% positivo y 2% negativo, de acuerdo con nuestro estudio obtenemos el mismo porcentaje reportado por Méndez E. en 2004, obteniendo la gráfica 8 donde observamos 98% Rh-D positivo y Rh-D negativo con solo el 2%

Del Peón L. en 2002 menciona que: “Sin ser regla, los grupos sanguíneos A y Rh-D negativo se encuentran más ampliamente distribuidos en poblaciones de las zonas norte y noroeste del país (Durango, La Paz, Guadalajara, Monterrey), mientras que, en poblaciones del sur y sureste, (Paraíso (Tabasco), Tlaxcala, Puebla y Oaxaca) presentan frecuencias considerablemente menores”

En relación a la frecuencia del sistema sanguíneo Duffy se encontró (grafica 9) que el antígeno Fy^a está expresando en mayor porcentaje que Fy^b con 197 y 139 muestras respectivamente, al empatar la expresión de los antígenos y clasificarla en los 4 fenotipos tenemos que como se observa en la gráfica 10 el fenotipo Fy(a+b-) se encuentra en 44% (128) de la población estudiada , Fy (a+b+) con 24% (71), Fy(a-b+) con 23% (68), y Fy(a-b-) con 12% (35),

En comparación con Miale 2008 que reporta que el fenotipo Fy(a+b+) está presente en 49% de la población blanca, el Fy(a+b-) en el 90.8% de la población china y Fy(a-b-) en el 68% de la población negra, y estudios en México realizados por Trueba R. 2001 quien encontró que el fenotipo Fy(a+b-) está presente en 29.5%, Fy(a+b+) 46.4%, Fy(a-b+) 23.8% y Fy(a-b-) 0.3% y en 2011 Rosenfeld M. que encontró la frecuencia fenotípica para Fy(a+b-) de 36.7%, Fy(a+b+) 43.5%, Fy(a-b+) 17.1% y Fy(a-b-) 2.7 %; y comparando con nuestra población estudiada obtenemos que el fenotipos Fy(a-b+) y Fy(a-b-) concuerdan con su reporte ; sin embargo, para los fenotipos Fy(a+b-) y Fy(a+b+) obtenemos resultados inversos esto quizá por la zona de población estudiada, los antecedentes poblacionales en combinación con las diferentes razas que se han establecido en nuestro estado.

Al hacer la separación de pacientes y donadores obtenemos que en los pacientes (grafica 11) se encuentra expresado con mayor porcentaje el fenotipo Fy(a+b-) con 46% (31), posterior Fy (a+b+) con 27% (18), Fy(a-b+) con 18% (12), y Fy(a-b-) con 9% (6) y mientras que en donadores (grafica 12) encontramos Fy(a+b-) con 42%

(98), Fy (a+b+) con 23% (55), Fy(a-b+) con 22% (52), y Fy(a-b-) con 13% (30). Y al comparar con el estudio realizado por Alcázar J. en 2007 en el Laboratorio del Banco Central de Sangre Centro Médico Nacional Siglo XXI Instituto Mexicano del Seguro Social. Ciudad de México, donde obtuvo los siguientes resultados:

FENOTIPO	DONADORES	PACIENTES
Fy(a-b+)	15%	21%
Fy(a+b-)	40.67%	39.26%
Fy(a+b+)	42.5%	37.08%
Fy(a-b-)	1.65%	0.96%

Encontramos que para el fenotipo Fy (a+b-) Alcázar obtiene en donadores un 40.67% mientras que en este estudio se encuentra en 42% y para pacientes 39.26 comparada con 46%. En el fenotipo Fy (a-b+) se establece la comparación de 15% contra 22% y en pacientes 21% contra 18%. Para el fenotipo Fy (a+b+) se reporta un 42.5% en contraste con 23% y en pacientes 37.08 vs 27%. En el caso del fenotipo Fy (a-b-) en donadores tenemos una comparación de 1.65% y 13% y para pacientes 0.96% y 9%.

De igual forma que se estableció el fenotipo según la expresión de los antígenos, se puede plantear un probable genotipo en base al fenotipo encontrado, como se muestra en la gráfica 13, teniendo como resultados para el fenotipo Fy(a+b-) 2 probables genotipos: Fy^a/Fy^a o *Fy^a/Fy con 42%; para el fenotipo* Fy(a-b+): Fy^b/Fy^b o *Fy^b/Fy con 23%,* Fy(a+b+): *Fy^a/Fy^b 23%* y Fy(a-b-) *Fy/Fy 12%;* según la expresión de los genes. Para el caso especial de pacientes (gráfica 14) tenemos Fy(a+b-): Fy^a/Fy^a o *Fy^a/Fy con 46%;* Fy(a-b+) Fy^b/Fy^b o *Fy^b/Fy con 18%,* Fy (a+b+): *Fy^a/Fy^b 27%* y Fy(a-b-): *Fy/Fy 9%*; y para donadores (grafica 15) Fy(a+b) tenemos: Fy^a/Fy^a o *Fy^a/Fy con 42% ;* Fy(a-b+): Fy^b/Fy^b o *Fy^b/Fy con 22%,* Fy (a+b+): *Fy^a/Fy^b 23%* y Fy(a-b-): *Fy/Fy 13%*.

Teniendo en cuenta la expresión de los antígenos que componen los sistemas ABO, Rh-D y Duffy se establece el análisis de compatibilidad transfusional de isofenotipos con el fin de tener un panorama de inmunosensibilización cuando se realiza una transfusion de diferentes isofenotipos. Como se observa en la gráfica 16 para el sistema ABO se encontró compatibilidad de isofenotipos en 93% e incompatibilidad de isofenotipo en 7% de los casos, sin embargo en base a lo establecido por la NORMA Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos, el 100% de las unidades transfundidas son compatibles dado que dicha norma en el apartado 11 establece una serie de opciones de transfusion de hemocomponente para la transfusión de concentrado de eritrocitos compatibles en los sistemas AB0 y Rh(D) en adultos y niños mayores de 4 meses, teniendo un orden de preferencia.

Para el sistema Rh-D tenemos que el 99% de unidades transfundidas cumplen con la compatibilidad del sistema RH-D y solo el 1% no está cumpliendo con la compatibilidad del sistema (grafica 17). Sin embargo, al igual que para el sistema ABO la NOM 253 NORMA Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos, nos establece una serie de opciones de transfusion para el sistema Rh-D, encontrado en el apartado 11 de dicha norma. Y en base a lo establecido por dicha norma el 100% de las unidades transfundidas son compatibles.

En el caso del sistema sanguíneo Duffy (grafica 18) obtuvimos mediante el análisis de resultados un porcentaje de compatibilidad de 64% y 36% en incompatibilidad de fenotipos. Entre las complicaciones que se pueden presentar en una transfusion es la Aloinmunizacion que es la respuesta inmunológica por el contacto con antígenos extraños o desconocidos, por esta sensibilización es más difícil para los servicios de transfusion encontrar unidades con fenotipos idénticos en pacientes con repetidas transfusiones, aumentando en mayor porcentaje el riesgo de reacciones transfusionales como puede ser ERT o EHRN, así como dificultad para asignar unidad compatible y aumento en costos económicos.(Villa M, 2011)

Si bien se sabe que el sistema Duffy también recibe el nombre de proteína DARC o Antígeno Duffy receptor de quimiocinas, se sabe que tiene asociación con la presencia o resistencia a ciertas enfermedades en el caso del gen FY nulo se asocia con neutropenia benigna procesos de inflamación principalmente en mujeres, además un gen homocigoto Duffy nulo es mayormente propenso a VIH-1 por la regulación de las quimiocinas y efectuando la infección de linfocitos, pero una progresión de la enfermedad del VIH más lenta una vez infectado (aunque la evidencia es controvertida). (Geoff, 2013)

La expresión de Duffy en células rojas está fuertemente asociada con la severidad de la enfermedad de células falciformes (SCD) y especialmente con daño de órganos, proteinuria teniendo niveles plasmáticos más altos de quimiocinas IL-8 y RANTES (quimiocina de regulación por activación expresada y secretada por los linfocitos T), crisis vaso oclusivas, además, durante la coagulación se han encontrado altos niveles de quimiocinas en estados trombóticos, que podrían modular la inflamación asociada con la hemostasia y la trombosis (Geoff, 2013).

El sistema Duffy es fuertemente asociado a RHI y EHRN, sin embargo también ha mostrado asociación con aumentaron neutrófilos del espacio aéreo, concentraciones de citoquinas inflamatorias, y la permeabilidad microvascular pulmonar provocando un TRALI y asma principalmente en género masculino, además de que los portadores del den homocigoto para antígenos Duffy han mostrado ser más propensos a cáncer de próstata, mientras que en el género femenino la expresión de un Ag Duffy en células de cáncer de mama inhibe el tumor crecimiento y potencial metastásico, a través de la eliminación de quimiocinas angiogénicas e inhibición de la neovascularización (Geoff, 2013).

Conclusión

- Se recabaron 500 muestras, pero solamente se analizaron 302 muestras para el estudio por criterios de inclusión
- La frecuencia de grupos sanguíneos ABO nos mostraron un mayor porcentaje el grupo sanguíneo O (74.2%), posterior A1 (13.6%), A2 (2.3%), B (7.6%) y A1B (1.3%), A2B (0.3%) encontrando también subgrupos de A (A_{int}) teniendo un bajo porcentaje de expresión (0.7%)
- Al establecer la frecuencia de fenotipos del sistema sanguíneo Duffy encontramos con mayor frecuencia Fy(a+b-) (44%), seguido de Fy(a+b+) (24%), Fy(a-b+) (23%), Fy(a-b-) (12%)
- Al comparar con Alcázar 2007 en su estudio del IMSS Siglo XXI los resultados obtenidos, obtuvimos la misma prevalencia para el fenotipo Fy(a+b-), seguido de Fy(a-b+), Fy(a+b+) Fy(a-b-)
- Existe mayor prevalencia de del grupo sanguíneo O y Fy(a+b-) en las muestras analizadas en pacientes y donadores
- Solo el 7% no está recibiendo una unidad compatible por isofenotipo del sistema ABO, mientras que para el sistema Rh-D solo el 1% no recibe una unidad del mismo fenotipo de acuerdo con las gráficas 16 y 17
- Se estima que el 64% de la población estudiada recibe transfusion sanguínea compatible por sistema sanguíneo Duffy, mientras que el 36% recibe transfusion incompatible como lo muestra la gráfica 18
- De acuerdo con los % obtenidos de incompatibilidad por grupo sanguíneo se está inmunosensibilizando al 36% contra sistema Duffy
- Se establece que los probables genotipos que la población estudiada, en esta investigación expresan: Fy^a/Fy^a o Fy^a/Fy 42%, Fy^b/Fy^b o Fy^b/F *23%*, Fy^a/Fy^b 23% y *Fy/Fy* 12%
- Según la NORMA Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos el 100% es compatible, sim embargo no se garantiza una compatibilidad antigénica solo aceptabilidad en ese evento transfusional

- Prevalece la importancia de tipificar los fenotipos de los sistemas antigénicos de importancia clínica para evitar inmunosensibilizar al paciente
- En caso exclusivo de paciente femenino con problemas ginecobstetricos evitar sensibilización y un daño en futuros embarazos o causar EHRN
- Se está aumentando el riesgo de sensibilización por sistema sanguíneo ABO y Duffy, que a largo plazo esto se reflejara en problemas de asignación de unidades compatibles, aumento del número de pruebas clínicas, pruebas de compatibilidad masiva y aumento económico por costos

Bibliografía

Abbas, A. y col (2008). Inmunología celular y molecular. México, 6ª edición Elsevier

Aguilar, A. (2004). Antecedentes de la medicina transfusional. Gac Méd Méx Vol. 140, No. 3.

Aguirre, F. (1952). Nomenclatura del Factor Rh. Revista médica de costa rica., Tomo XI. pp 33-38.

Alcázar, JL y col (2007). Investigación en el trabajo diario de inmunohematología. Fenotipos eritrocitarios y protocolo para encontrar sangre compatible en pacientes con aloanticuerpos antieritrocitos. Gac Méd Méx Vol.143 Supl. 2

Álvarez, C. (2012). De la sangría a la transfusión y al arte. Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM, Volumen 55, Numero 1.

Arbeláez, C. (2009). Fundamentos de genética e inmunología para bancos de sangre y medicina transfusional. Medicina & Laboratorio, Volumen 15, Números 1-2

Arbeláez, C. (2009)a. Sistema de grupo sanguíneo Medicina & Laboratorio, Volumen 15, Números 7-8

Asok, C. y col. (2004). Development of Duffy transgenic mouse: in vivo expression of human Duffy gene with 33T fi C promoter mutation in non-erythroid tissues. British Journal of Haematology, volumen 127, no. 3, pp.356-359

Baptista, H. (2005). El sistema Rh, una mirada a fondo. Rev. Med Inst Mex Seguro Soc vol. 43, no.1 pp. 3-8

Batissoco, A. y col. (2003). Aspectos moleculares do Sistema Sangüíneo ABO, Molecular aspects of ABO Blood Group System. Rev. bras. hematol. hemoter, vol 25, Número 1, pp. 47-58.

Bravo, L. (2010). Reacción hemolítica aguda. Asociación Mexicana de Medicina Transfusional. Vol. 3, Núm. 1, pp 18-21

Brevern, A. y col (2009) A structural model of a seven-transmembrane helix receptor: The Duffy antigen/receptor for chemokine (DARC). Biochimica et Biophysica, vol 1724, pp. 288–306

Canle, O. (2013). Grupos sanguíneos más allá del ABO y Rh. Unidad de hemoterapia HNRG.

Carlos, A. y col. (1981). Terapia Transfusional. Rev. Medica honduras. Vol. 49

Carmona, F. (2006). Frecuencia de los grupos sanguíneos ABO y Rh en la población laboral del valle de Aburrá y del cercano oriente de Antioquia. Acta médica colombiana, volumen. 31, número 1, pp. 20-30

Coombs, M. (2009). Lewis Blood Group System review. Inmunohematology. Journal of Blood Group Serology and Educativo. Volumen 25, numero 3.

Coppo y Báez, Grupos Sanguíneos. (2003).

Dean, L. (2005). Blood Groups and Red Cell Antigens. National Library of Medicine, National Institutes of Health. De NCBI Base de datos. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2274/

Del Peón, L. y col (2002). Frecuencias de grupos sanguíneos e incompatibilidades ABO y RhD, en La Paz, Baja California Sur, México. Salud Publica Mex. Vol 44. No. 5, pp 406-412

Dueñas, V. (2003). El Banco de Sangre. Colombia: Editorial Universidad del Valle. Segunda edición. pp. 59-67,

Esquivel, M. y col. (1997). Incompatibilidad sanguínea por anticuerpos Anti-Duffy (Fya). Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera. vol.32 no.1-2

Ferrato, M. (2012). Aloinmunizacion frente al antígeno Lutheran b en una anciana. Hospital del mar. Barcelona

Franchini, M y col. (2013). The intriguing relationship between the ABO Blood group, cardiovascular disease, and cáncer. BioMed Central. vol. 13 no.7.

García, M. y col (2001). Frecuencia de los grupos sanguíneos A1, A2, Aint, B y O en individuos normales. Rev. Cubana Hematol Inmunol Hemoter vol.17 n.3

Geoff, D. (2013). Human Blood Groups. Editorial Blackwell Science, Second Edition, p. 544

Geoff, D. y col. (2003). Causes of fetal anemia in hemolytic disease due to anti- K. Tranfusion. Volumen 43. P 115.

González, A. (2005). Grupos sanguíneos y enfermedades. Medicina clínica. Vol. 125

González, L. (2005). Anticuerpos irregulares, su importancia en medicina transfusional. Rev. Med Inst Mex Seguro Soc. vol. 3 no. 1. Pp. 17-2

Green C. (1989 enero 12). The ABO, Lewis and related Blood group antigens; a review of structure and biosynthesis. FEMS Microbiology Immunology, vol.47, pp. 321-330.

Grispan, S. (1983). Rev. Medica Honduras. Vol. 51

Howes, R. y col. The global distribution of the Duffy blood group. Pubmed 2 (266). Doi: 10.1038/ncomms1265

Iturbide, P y col (2013). Frecuencias de grupos sanguíneos ABO, Rh y grado de mestizaje en la Región Montaña, Guerrero, México. Rev Med Hosp Gen Méx, Vol. 76, Núm. 4.

Jaime, P. y col. (2009). Hematología: La sangre y sus enfermedades. México. Ed. McGRA HILL. 2ª edición.

Jens E., Pagliarini T., Novarett M. (2005). Duffy blood group system: biology and transfusion practice. Revista Brasileña de Hematología, vol.27 no.2

Kindt, y col (2007) inmunología de kuby. México DF: McGRAW-HILL INTERAMERICANA

Liu, X. y col. (2012). Correlation between Duffy Blood group phenotype and breast cáncer incidence. BMC Cancer. Vol.12 no. 374, pp.1-6.

Luna, G. (2007). La reacción transfusional. Gaceta Médica México. Vol.143 no. 2.

Méndez, E. (2004). Frecuencia de los grupos sanguíneos ABO y Rh (D) en la zona media del Estado de San Luis Potosí. Rev Fac Med UNAM Vol.47 No.1

Miales, J. (1985). Hematología: medicina de laboratorio. Saint Louis. Reverte. Sexta edición.

Miller, L. y col. (1975). Erythrocyte receptors for (Plasmodium knowlesi) malaria: Duffy blood group determinants. Science. Vol.189 no.561

Mitra, R. y col. (2014). Blood group system. Indian Journal of anesthesia. Vol. 58 no. 5.

Moyado, H. y col (2004). Los grupos sanguíneos en la población de la república mexicana, El banco de sangre y la medicina transfusional. México DF: panamericana.

Myhre, B. (1990). The first recorded Blood transfusions: 1656 to 1668. Transfusion. Vol. 30 No. 4

Nieto, R. (2006). Detección, análisis y resolución de discrepancias en el grupo sanguíneo ABO. Rev. Med Inst Mex Seguro Soc. Vol. 44 no. 2. Pp. 31-3

Palacajornsuk, P. (2007). Review: molecular basis of MNS Blood group variants. Inmunohematology. Vol 23 no.3.

Parham, P. (2014). The Immune System, Fourth Edition. Garland Science. ISBN: 1317511573, 9781317511571

Pérez. R y col (2010). Frecuencia de los principales grupos sanguíneos del sistema ABO y el factor Rh en seis municipios del área rural del departamento de Antioquia y el Atrato Medio, Colombia, 2005. Hechos Microbiol. Vol. 1 No. 2, pp 27-33.

Pliego, R. (2012). Evolución de la transfusion sanguínea. Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM. Vol. 55, No 1.

Qun, L. (2009). Blood Groups- Duffy and MNSS group system. Department of Pathology and Laboratory Medicine. Los Angeles, California

Race, R. (1951). Los 8 Sistemas de Grupos Sanguíneos y sus Aplicaciones Prácticas. Medical Research Council Blood Group Research Unit, Lister Institute. London, S. W. I., Vol XXIX, N° 7.

Reid, M. (2009). MNS Blood group system: a review. Inmunohematology Journal of Blood Group Serology and Education. Vol 25 no. 3.

Renán, A. (2005). La sangre en la historia de la humanidad. Revista Biomédica, Vol. 16, No. 4. Pp 281-288.

Rosenfeld, F.; Reyes, E. y Arreygue M. (2011). Determinación de los alelos principales de los grupos sanguíneos Duffy y Diego. Repositorio digital IPN. Recuperado de http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/8443

Rot, A y col (2009). Chap. 9: The Duffy antigen receptor for chemokines. Methods in Enzymology. Vol. 461. Doi: 10.1016/S0076-6879(09)05409-3

Rouger, P., Edelman, L., Doinel, C., Reviron, J., Salmon, C., & Bach, J. F. (1983). Study of blood group B antigen with a specific monoclonal antibody (anti-B, b-183). Immunology, 49(1), 77–82.

Salomon, C. (1976). Les phénotypes B faibles B3, Bx, Bel Classification pratique proposée. Elsevier. Vol 19 numero 1, pp 89-104

Salvatella, F. (2008). Antecedentes históricos de la Medicina Transfusional. Revista mexicana de medicina transfisional. Vol 1 No. 1. p 7-9

Smolarek, D. y col (2010). Multiple interests in structural models of DARC transmembrane protein. Transfusion Clinique et Biologique. Vol 17, pp 184–196

Suardíaz, J. y col. (2004). Laboratorio clínico. Editorial Ciencias Médicas. Habana

Trueba, R y col (2014). Genotipificación de diversos grupos sanguíneos en donadores recurrentes. Primer reporte. Revista Mexicana de Medicina Transfusional, Año 7, Núm. 1, p.35

Vázquez, J. y col. (2002). Reacciones postranfusionales. Revista de la facultad de medicina. Vol. 25 no.2. pp.154-62

Villa, M, Pérez, R. (2011). Aloinmunizacion en pacientes dependientes de transfusión de glóbulos rojos: revisión sistemática. Hechos Microbiol. Vol. 2 No. 1; pp. 63-69

Westhoff, C. y col. (2004). Review: The Kell, Duffy and Kidd Blood group system. Inmunohematology. Vol. 20 no. 1

Calculador para tamaño de muestra: http://www.calculator.net/sample-size-calculator.html