



# Gammaglobulina anti-D e inmunoprofilaxis. Historia, importancia, usos y obtención

## *Anti-D gamma globulin and immunoprophylaxis. History, importance, uses and procurement*

Aguila Rodríguez Yisell,\* Pacheco Morejón Johanna,‡ Izquierdo Hernández Mairelys,§  
 Sánchez Frenes Pedro,|| Benítez Zayas Marlen Beatriz,¶ Sánchez Bouza María de Jesús\*\*

### Palabras clave:

gammaglobulina anti-D, inmunoprofilaxis anti-D.

### Keywords:

Gamma globulin anti-D, immunoprophylaxis anti-D.

\* Doctora en medicina. Especialista de 1<sup>er</sup> grado en Medicina General Integral y en Laboratorio Clínico. Profesora Asistente. Máster en Educación Médica. Sección de Hospitales y Especialidades de la Dirección Provincial de Salud de Cienfuegos, Cuba.

‡ Doctora en medicina. Especialista de 1<sup>er</sup> grado en Medicina General Integral y en Laboratorio Clínico. Asesora municipal de laboratorios clínicos. Dirección Municipal de Salud. Cienfuegos, Cuba.

Recibido:  
26/03/2019  
Aceptado:  
30/04/2019

### RESUMEN

La obtención de gammaglobulina anti-D relaciona todas las actividades de la cadena transfusional. El uso de este hemoderivado en la prevención de la aloinmunización anti-Rhesus constituye un asunto de especial interés de la medicina transfusional actual. Este trabajo relaciona los aspectos históricos, bioquímicos, inmunológicos y genéticos del sistema Rh, además de las actividades para la obtención de plasma humano hiperinmune anti-D que incluyen el reclutamiento, la selección y la inmunización de donantes voluntarios. La disponibilidad y cobertura de este medicamento para la asistencia sanitaria no alcanza la magnitud necesaria. Varios factores inciden sobre este aspecto, la falta de un criterio unificado para los esquemas de inmunización, la necesidad de reclutar y fidelizar donantes voluntarios, aspectos éticos y económicos entre otros elementos logísticos. La utilización de anticuerpos monoclonales puede constituir una alternativa ventajosa y promisoriosa, pero aún no es técnicamente posible su utilización en la producción de derivado sanguíneo.

### ABSTRACT

Obtaining anti-D gamma globulin relates all the activities of the transfusion chain. The use of this hemoderivative in the prevention of anti-Rhesus alloimmunization is a matter of special interest in current transfusion medicine. This work relates the historical, biochemical, immunological and genetic aspects of the Rh system. In addition, activities for human hyperimmune anti-D plasma collection include recruitment, selection, and immunization of volunteer donors. The availability and coverage of this medicine for health care does not reach the necessary magnitude. Several factors affect this aspect, the lack of unified criteria for immunization schemes, the need to recruit and retain voluntary donors, ethical and economic aspects, among other logistical elements. The use of monoclonal antibodies may be an advantageous and promising alternative, but it is not yet technically possible to use them in the production of blood derivatives.

### INTRODUCCIÓN

Historia: el descubrimiento del grupo sanguíneo Rh en 1940 por Philip Levine, Landsteiner y Weiner abrió un nuevo horizonte en el desarrollo de la medicina transfusional.

Sus trabajos experimentales con animales de laboratorio constituyen investigaciones clásicas en la medicina moderna. Inmunizaron conejos con eritrocitos del mono *Macacus Rhesus*. Los anticuerpos obtenidos aglutinaron los eritrocitos de 85% de los individuos y se planteó que éstos eran portadores del factor Rh, o sea, Rh positivo. Al 15% restante se le clasificó como Rh negativo.<sup>1</sup>

Un poco después se reportó que los anticuerpos anti-Rh obtenidos en conejos eran de igual especificidad que los encontrados por Levine y Stetson en 1939 en una puerpera con un hijo afectado por enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido (EHFRN). De esta forma, se describió el conflicto materno fetal por incompatibilidad Rh.<sup>1</sup>

Investigaciones ulteriores demostraron que los anticuerpos obtenidos en conejos por inmunización con eritrocitos del mono *Macacus Rhesus* reconocían antígenos diferentes a lo que hoy se conoce como el antígeno Rh D y se les agrupó en un nuevo sistema denominado con las iniciales de sus descubridores LW.<sup>1,2</sup>

§ Doctora en medicina. Especialista de 1<sup>er</sup> grado en Medicina General Integral y de Laboratorio Clínico. Servicio de Laboratorio Clínico. Hospital General Universitario «Dr. Gustavo Aldereguía Lima de Cienfuegos», Cuba.  
 || Doctor en medicina. Especialista de 2<sup>o</sup> grado en Laboratorio Clínico, Máster en Salud Pública. Investigador agregado, Profesor Auxiliar. Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos. Cuba.  
 ¶ Doctora en medicina. Especialista de 1<sup>er</sup> grado en Laboratorio Clínico. Profesora instructora. Laboratorio de Investigaciones Biomédicas. Universidad de Ciencias Médicas de Cienfuegos. Cuba.  
 \*\* Doctora en medicina. Especialista de 2<sup>o</sup> grado en Bioquímica Clínica, Máster en Enfermedades Infecciosas, Investigadora agregada, Profesora Auxiliar. Universidad de Ciencias Médicas de Cienfuegos. Cuba.

Correspondencia:  
**Dra. Yisell Aguila Rodríguez**  
 E-mail: yisellar@jagua.cfg.sld.cu.;  
 pedrosf@jagua.cfg.sld.cu.

## Características bioquímicas, inmunológicas y genéticas del sistema Rh

Hoy se conoce que el sistema Rh es el más polimórfico de los grupos sanguíneos eritrocitarios. Consta hasta el momento de más de 50 antígenos. Con la excepción de los antígenos D, C, c y E, es infrecuente encontrar reacciones hemolíticas en las que se identifiquen anticuerpos de esas especificidades, ya que en su mayoría son antígenos de alta o baja incidencia y por lo tanto, muy pocos receptores producen anticuerpos contra ellos.<sup>1,3</sup>

Los genes RHD y RHCE, muy cerca uno de otro en el cromosoma 1, codifican las proteínas Rh de 416 aminoácidos; una codifica para el antígeno D y la otra para los antígenos CE en varias combinaciones (ce, cE, Ce, o CE).<sup>3-5</sup>

Los términos Rh positivo y Rh negativo hacen referencia únicamente a la presencia o ausencia del antígeno D en los hematíes.<sup>1,2</sup>

A diferencia del sistema ABO, los individuos que carecen del antígeno D, o sea, Rh negativo, no presentan anticuerpos anti-D naturales en el suero. La formación de estos anticuerpos se produce por exposiciones a hematíes D positivo a través de las transfusiones de sangre o embarazos.<sup>5,6</sup>

La inmunogenicidad de este antígeno es tal que 80% de los individuos RhD negativo producen anticuerpos anti-D con la transfusión de una unidad de sangre RhD positivo. Estos anticuerpos son los responsables de la EHRN en las mujeres embarazadas RhD negativo.<sup>5,7</sup>

### Expresión débil del antígeno D (D débil)

La gran mayoría de los individuos RhD positivo muestran aglutinación definida con el reactivo anti-D. En ocasiones, los eritrocitos D positivo no reaccionan con los reactivos anti-D en las técnicas convencionales y la detección del antígeno D requiere una incubación prolongada con el anti-D o el empleo de la técnica de antiglobulina (Coombs). Con anterioridad, esta expresión fenotípica era nombrada como Du.<sup>1,2</sup>

El D débil se define como un fenotipo que tiene menor expresión del antígeno D y responde a varias circunstancias genéticas, ya que el gen RhD puede codificar para una expresión

debilitada del antígeno D (cDe). Otro de los fenómenos bien conocidos es el debilitamiento del antígeno D por la presencia del gen C en posición transversal con respecto al D, es decir, en el cromosoma opuesto (CDe/Ce).<sup>1,2</sup>

### D parcial

La producción de anti-D en un paciente D positivo es muy infrecuente. Los eritrocitos de estos individuos carecen de algunos de los epítopes del antígeno D y el anticuerpo anti-D que producen es contra la parte del antígeno que no está presente en sus células; por esta causa se clasifican como D parcial. El antígeno D consta de 16 epítopes y se han descrito cerca de 12 tipos de D parcial de acuerdo con la dotación de epítopes presentes y ausentes que corresponden también con la presencia o ausencia de los 10 exones del gen RhD.<sup>1,2,8</sup>

### Rh nulo

Existen individuos que carecen de todos los antígenos del sistema Rh sobre sus eritrocitos, lo cual puede deberse a la ausencia de un gen regulador que permite la expresión de los genes Rh o a la presencia de un gen amorfo en el *locus* Rh. Esta anomalía da lugar a un síndrome de hemólisis crónica resultante en la inestabilidad de la membrana del eritrocito debido a la falta de los polipéptidos correspondientes.<sup>1,2,8</sup>

La prevalencia del antígeno D es muy baja entre los indios americanos (1%), Asia (1%) y África (4%). Sin embargo, la mayoría de los países europeos tienen una prevalencia de individuos Rh D negativo mayor de 15% (Austria 19%, Inglaterra 17%, España 17%, Irlanda 16%, Dinamarca 16%, Holanda 16.3% y Suecia 18%). En América, Uruguay reporta 12% y Cuba una prevalencia de 13.51%.<sup>1,2,7</sup>

### Inmunoprofilaxis anti-D

La inmunoprofilaxis anti-D en pacientes Rh negativo aloimmunizados constituye en la actualidad una práctica médica segura y efectiva. La cobertura y acceso a este derivado del plasma es un problema para algunos sistemas sanitarios, sobre todo en aquellos países de bajos ingresos o en vías de desarrollo.

Una premisa indispensable para la disponibilidad de este hemoderivado es contar con sistemas de salud organizados en la donación voluntaria de sangre como fuente de obtención de plasma a partir de humanos aloinmunizados, además de la necesidad de disponer de infraestructura tecnológica para las donaciones de plasma por aféresis junto con la industria fraccionadora que incluya el transporte, conservación y manufactura de los productos hemoderivados.

En este artículo se realiza una revisión bibliográfica acerca de la historia, importancia, usos y obtención de plasma hiperinmune anti-D necesario en la fabricación de gammaglobulina específica para la inmunoprofilaxis.

## DESARROLLO

*Producción de gammaglobulina anti-D:* la fuente de obtención es el plasma hiperinmune anti-D de origen humano.

*Procedimiento para la obtención de plasma hiperinmune:* para ello es indispensable disponer de donantes sanos dispuestos a ser inmunizados y evaluados de forma periódica para la comprobación de los títulos en cada donación y proceder a inmunizar a los que así lo requieran.

*Inmunización de individuos:* se realiza para estimular una antigua aloinmunización en mujeres Rh negativo menopaúsicas o antiguos transfundidos o para crear una nueva inmunización.

Como principio rector de todo esquema de inmunización se debe usar la mínima dosis de antígeno y el menor número de inmunizaciones para obtener la respuesta deseada.<sup>9</sup>

Requerimientos mínimos a tener en cuenta para el programa de inmunización:

1. Disponer de ensayo para detectar y/o cuantificar el anticuerpo deseado.
2. El mínimo nivel de anticuerpo requerido.
3. Diseño de un esquema de inmunización que incluya datos acerca de la dosis, intervalo entre las inmunizaciones, total de dosis y vías de administración.
4. Criterios para considerar a un donante prospectivo como no respondedor.
5. Consentimiento informado del donante para participar.

Los donantes de eritrocitos (inmunógeno) deben reunir, además de los criterios de selección establecidos en el país para seleccionar donantes de sangre, los siguientes criterios:

1. Los donantes deben ser fenotipados para los antígenos ABO, Rh, Kell, Fya/Fyb, Jka/Jkb y S/s.

2. Es muy ventajoso, de ser posible, seleccionar individuos homocigóticos para el antígeno D, el fenotipo recomendado por Genetet es el ccDEE debido a la mayor cantidad de sitios D que existen en ellos.<sup>10</sup>
3. El volumen de sangre total extraído no debe exceder de 450 a 500 mL en un periodo de más de 12 semanas.
4. Los eritrocitos obtenidos para inmunización deben ser congelados antes de su uso por un periodo, como mínimo, de seis a 12 meses, dependiendo de la sensibilidad y el rango del test realizado para marcadores infecciosos. El donante debe ser reanalizado antes de la congelación y uso de las células como inmunógeno.
5. Se recomienda la leucorreducción de la donación y aplicación de tecnología de ácidos nucleicos (TAN) para la pesquisa de los marcadores infecciosos (tecnología de ácidos nucleicos TAN para HBV, HCV y HIV).

### Receptores del inmunógeno (donante de plasma hiperinmune anti-D)

1. Los receptores deben ser fenotipados para los antígenos ABO, Rh, Kell, Fya/Fyb, Jka/Jkb y S/s antes de la inmunización.
2. Los eritrocitos del donante y receptor deben ser comparados con la mayor cantidad de sistemas de grupos sanguíneos posibles. Sólo pueden utilizarse eritrocitos ABO compatibles. Además, se aceptan incompatibilidades para el sistema Rh (C y D). No deberá aceptarse incompatibilidad con otros sistemas como Kell, Fy, Jk y S/s.
3. Los donantes inmunizados deben portar una tarjeta u otro método apropiado que señale la existencia de anticuerpos en caso de tener que ser transfundidos de emergencia.
4. Se recomienda que los donantes tengan menos de 60 años y no trabajen en ocupaciones peligrosas como choferes, operadores de maquinarias pesadas, trabajadores de alturas y pilotos.

### Esquemas de inmunización

No existe en la literatura un protocolo unánime, se considera efectivo aquel esquema de inmunización que logre la respuesta de anticuerpos en 65-70% de los donantes RhD negativo y que los anticuerpos anti-D se detecten entre los nueve meses de iniciarse la inmunización. Además, que no se detecten anticuerpos contra antígenos de otros sistemas de grupos sanguíneos.<sup>11</sup>

La Dra. Fernández y colaboradores, en el Banco de Sangre de Santa Clara utilizan el siguiente esquema de inmunización:<sup>9</sup>

0 días: primera dosis: 10 mL del inmunógeno por vía endovenosa.

15 días: segunda dosis: 10 mL del inmunógeno por vía endovenosa.

45 días: tercera dosis: 10 mL del inmunógeno por vía endovenosa.

Cuatro meses: cuarta dosis de 5 mL por vía endovenosa.

Dosis de refuerzos cada seis meses: 1 mL por vía subcutánea.

Este equipo considera al donante como respondedor cuando el valor del título de anticuerpos alcanza 1/512. Cuando no se obtiene esta cifra, le administran una dosis secundaria de 5 ml por vía endovenosa; en el caso del donante que no llega a tener el título de anti-D requerido (1/512), se considera como no respondedor, y se excluye del programa. Para la dosis de mantenimiento se utiliza 1 ml por vía endovenosa, si fuera necesario.

Asimismo, reporta haber logrado con ese esquema de inmunización una respuesta en más de 90% de los donantes con niveles óptimos de título de anticuerpos anti-D con una frecuencia de cinco dosis de inmunización en un periodo de seis meses.

Molé, del Banco de Sangre Provincial de Granma, informa haber tenido éxito con el siguiente esquema de inmunización para la sensibilización de los donantes anti-D en el que utilizó glóbulos rojos lavados O positivo.<sup>11</sup>

1 mL intramuscular + 5 mL endovenoso primer día.

1 mL intramuscular + 5 mL endovenoso 15 días.

1 mL intramuscular + 10 mL endovenoso 15 días.

1 mL intramuscular + 10 mL endovenoso 15 días.

Cuando se alcanzan títulos de anticuerpos 1:512 o superiores cuantificados mediante aglutinación, se inicia el proceso de plasmadonación. A partir de la segunda donación se inicia el periodo de descanso, en el cual se realiza un examen clínico y humoral completo y se administra una inyección de 1 mL intramuscular de mantenimiento.

Genetet y Mannonni expresan haber obtenido buenos resultados con la inyección de 5 mL de inmunógeno (hematíes lavados con fenotipo ccDEE) endovenoso, seguido de dos mL por igual vía a los tres meses. Utilizan una inmunización de refuerzo de 2 mL en dependencia del comportamiento del título.<sup>10</sup>

En Cuba la regulación 35-2003 de CECMED establece: «los plasmas específicos serán titulados por un método adecuado y validado, previamente acordado con la industria, la cual definirá la potencia o concentración

de anticuerpos requerida para cada plasma específico. El plasma específico se obtendrá mediante la aplicación de esquemas de inmunización aprobados según la regulación vigente sobre inmunización de donantes de plasma específico».<sup>12</sup>

### Producción industrial de gammaglobulina anti-D.

Esta inmunoglobulina es preparada a partir del plasma de individuos inmunizados al antígeno D que es enviado a los centros de fraccionamiento industrial. A éste se le realiza un proceso industrial de fraccionamiento e inactivación viral.

En este proceso se incluye el método de fraccionamiento de Cohn con etanol y un proceso de cromatografía por el cual se obtiene un producto de alta pureza.

El método de Cohn, descrito por Edwin Cohn en Harvard en 1943, distingue hasta cinco «fracciones» en las que se obtienen productos concentrados de FVIII, complejo protrombínico, inmunoglobulinas (fracciones II y III), antitrombina III (fracción IV) y albúmina (fracción V).

Se agregan dos procesos de inactivación viral, el solvente-detergente para remover los virus con cubierta lipídica (VIH, hepatitis B y C) y la nanofiltración para remover otros virus sin cubierta lipídica (parvovirus B19, hepatitis A).<sup>13</sup>

Esta preparación acarrea dos problemas principales: uno es el del abastecimiento de la materia prima, el plasma hiperinmune sobre todo en la Unión Europea (UE), donde desde hace años se han prohibido los protocolos de inmunización de sujetos sanos «voluntarios» Rh negativo para la obtención de plasma con fines de fraccionamiento, las industrias importan plasma de América del Norte (EUA y Canadá). El segundo problema son los aspectos éticos ligados a la inmunización de sujetos sanos, teóricamente voluntarios.<sup>7</sup>

### Obtención de inmunoglobulina anti-D a partir de anticuerpos monoclonales

Los anticuerpos monoclonales, desde su descubrimiento en 1975 por Kohler y Milstein, tienen como ventaja que no necesitan como fuente plasma humano, reducen los costos de manufactura, son productos de alta pureza y no tienen riesgo de transmitir enfermedades, por lo cual no necesitan procedimientos de inactivación de patógenos. El objetivo de la primera etapa es seleccionar linfocitos B productores de anticuerpos humanos y la segunda es obtener la producción de anticuerpos monoclonales recombinantes anti-D.<sup>5</sup> Actualmente, existen cuatro anticuerpos monoclonales anti-D recombinantes que se están investigando en ensayos clínicos de tipo IgG 1 e Ig G 3.<sup>4</sup>

### La inmunoprofilaxis anti-D

En 1900, von Dungern determinó con experimentos en conejos que la inmunización activa provocada por un antígeno determinado puede prevenirse por la administración pasiva de anticuerpos específicos contra el antígeno.<sup>7</sup>

En 1943, Levine observó que los anticuerpos anti-D se desarrollan más frecuentemente en aquellas mujeres que carecen de las aglutininas naturales anti-A y anti-B del sistema ABO. En 1956 se demostró que la incompatibilidad ABO feto materna ejercía una protección frente a la inmunización anti-D gracias a los experimentos realizados por Stern y cols.<sup>7</sup>

A partir de 1960 dos grupos de investigadores, uno en Liverpool y otro en Nueva York, comenzaron a efectuar trabajos experimentales sobre la prevención de la inmunización anti-D. El grupo inglés basó sus trabajos en los hallazgos anteriores de la protección ABO y la técnica de Kleihauer de elución ácida, descrita en 1957, para distinguir la hemoglobina (Hb) fetal de la del adulto.<sup>7</sup>

El grupo de Nueva York, en cambio, desarrolló sus trabajos experimentales basados en el reporte de Theobald Smith de 1909, en el que se demuestra que la respuesta inmunitaria frente al toxoide de la difteria podía ser inhibida por un exceso de antitoxina.

En 1960 el Dr. Finn, en un simposio médico en Liverpool, sugirió: *It might be possible to destroy any fetal red cell found in their maternal circulation following delivery by means of a suitable antibody. If successful, this would prevent the development of erythroblastosis, so mimicking natural protection afforded by ABO incompatibility.*<sup>7</sup>

El primer trabajo científico fue realizado por Stern y colaboradores en 1961, en el cual a 16 hombres voluntarios O Rh D negativo se les inyectó repetidamente eritrocitos O Rh D positivo sensibilizados con suero anti-D. Ninguno de los 16 hombres se inmunizó, mientras que en subsiguientes inyecciones de eritrocitos no sensibilizados en 10 hombres produjo la inmunización anti-D en cinco hombres después de la segunda inyección.<sup>7</sup>

Finn y su equipo, también en 1961, determinaron la incidencia y cantidad de eritrocitos fetales en la circulación de 256 madres Rh negativo. Los glóbulos rojos fetales se encontraron en 30 muestras (11.7%), y en cuatro (1.6%) el volumen de la hemorragia feto-materna fue superior a 5 mL. En la misma publicación, Finn y colaboradores inyectaron a hombres voluntarios Rh negativo con eritrocitos Rh positivo.<sup>7</sup>

La subsiguiente administración intravenosa de suero anti-D que contiene inmunoglobulinas M y G acelera la depuración de los eritrocitos Rh positivo, por lo que concluyen que una manera de prevenir la inmunización

anti-D en madres ABO compatibles puede ser mediante la rápida destrucción de los glóbulos rojos fetales inyectando suero anti-D, lo cual produce una rápida depuración, similar a la que se da cuando existe incompatibilidad ABO.<sup>7</sup>

En 1963 Clarke y colaboradores, del grupo de Liverpool, realizaron tres series de experimentos donde hombres voluntarios Rh negativo fueron inyectados con eritrocitos Rh positivo.<sup>7</sup>

En el primer experimento, 30 minutos después de la inyección de los eritrocitos, a la mitad de los hombres se les administró plasma que contenía anticuerpos anti-D del tipo IgM, lo cual tendría un efecto de protección similar a los anticuerpos ABO naturales que son también IgM. En el segundo experimento la mitad de los hombres voluntarios fue inyectada con 30-50 mL de plasma que contenía anticuerpos anti-D del tipo IgG.

Ocho de 13 hombres tratados con anti-D IgM desarrollaron inmunización (54%), mientras que sólo uno de 11 no tratados (9%) se inmunizó, por lo que concluyeron que los anticuerpos anti-D completos (IgM) no sólo no previenen la inmunización anti-D, sino que parecen estimularla. En el segundo experimento, sólo tres de 21 hombres tratados con IgG anti-D (14%) y 11 de los 21 no tratados (54%) desarrollaron inmunización, lo cual sugiere una protección mediante anticuerpos incompletos (IgG). En el tercer trabajo se demostró que los eritrocitos sensibilizados con anticuerpos IgG desaparecían más rápido de la circulación.

En 1968 la *Food and Drugs Administration* (FDA) en EUA aprobó la primera preparación comercial de inmunoglobulina anti-D, RhoGam de Ortho Clinical Diagnostics.<sup>7</sup>

En 1971, Pollack y su equipo establecieron la relación de la cantidad de inmunoglobulina anti-D (Ig RhD) necesaria para neutralizar un volumen determinado de eritrocitos fetales: 20 microgramos ( $\mu\text{g}$ ) de IgRhD por mL de eritrocitos o 10  $\mu\text{g}$  por mL de sangre fetal.

Finalmente, la primera profilaxis RhD antenatal durante la gestación fue realizada en Manitoba, Canadá en 1968. En la fase inicial 300  $\mu\text{g}$  de Ig RhD eran administrados a las 34 semanas de gestación. Luego se cambió el protocolo y se administró una dosis a las 28 semanas y otra similar a las 34 semanas. Por último, la profilaxis antenatal se redujo a una sola dosis a las 28 semanas de gestación y una segunda IgRhD se administraba postparto si el recién nacido era Rh positivo.<sup>7</sup>

### Mecanismo de acción

La inmunoglobulina RhD (IgRhD) es un hemoderivado producido a partir del fraccionamiento industrial de plasmas de individuos aloinmunizados en el que predomina

mina el anticuerpo anti-D de la clase inmunoglobulina G (IgG).<sup>14,15</sup>

Una dosis de 300 µg de anti-D es suficiente para contrarrestar los efectos inmunizantes de 15 mL de eritrocitos Rh D positivo, o aproximadamente un total de 30 mL de sangre (efecto dosis dependiente).<sup>15,16</sup>

Este efecto protector de la IgG anti-D en los individuos D negativo expuestos a células D positivo probablemente resulta de la interferencia con el reconocimiento antigénico en la fase de inducción de la inmunización. La IgRhD en la circulación materna se une a los glóbulos rojos fetales (GRF) Rh D positivo y éstos son secuestrados en el bazo. Básicamente, las funciones de este órgano del sistema inmunitario son:<sup>7</sup>

1. Retirar células sanguíneas senescentes y microorganismos extraños por filtración.
2. Desarrollar la respuesta inmunitaria frente a antígenos foráneos.

Estas actividades están anatómicamente separadas, una se cumple en la pulpa roja y otra en la pulpa blanca. La rápida desaparición de los GRF sensibilizados de forma pasiva en la pulpa roja evitaría el contacto del antígeno D con las células inmunocompetentes de la pulpa blanca donde se produce la respuesta inmunitaria. Por ello, la inmunoprofilaxis con IgRhD no es efectiva una vez que se ha iniciado la respuesta inmunitaria. A los 13 días de la administración de 1 mL de eritrocitos RhD positivo la infusión de 100 µg de IgRhD neutraliza la inmunización en 50% de los casos.<sup>7</sup>

Se desconoce el mecanismo por el cual la inmunoglobulina anti-D suprime la inmunización a Rh (D) positivo. Sin embargo, la supresión puede relacionarse con la eliminación de los eritrocitos en la circulación antes de alcanzar los sitios inmunocompetentes. También podría tratarse de un mecanismo más complejo que involucraría el reconocimiento del antígeno extraño y la presentación del antígeno por las células apropiadas en los sitios específicos en presencia o ausencia de anticuerpos.<sup>15,16</sup>

Las inmunoglobulinas disminuyen el paso transplacentario de anticuerpos y/o bloquean los receptores Fc del sistema reticuloendotelial fetal, disminuyendo así el grado de fagocitosis de los hematíes fetales.<sup>17</sup>

El producto se une a las moléculas del antígeno RHO (D) de eritrocitos Rh positivo. Estos antígenos son enmascarados y reconocidos por el sistema inmunitario como extraños, lo que previene la sensibilización e induce la opsonización del eritrocito cargado de anticuerpos.<sup>15</sup>

Donoso plantea tres hipótesis para tratar de explicar el mecanismo de acción de la inmunoglobulina anti-D:<sup>16</sup>

1. Protección dada por el bloqueo de los sitios antigénicos del eritrocito fetal por la Ig anti-D, evitando de este modo que dichos antígenos se pongan en contacto con las células inmunocompetentes.
2. La gammaglobulina anti-D al unirse a los sitios antigénicos del eritrocito fetal producirá una desviación de las células hacia sitios donde hay células con poca o ninguna capacidad de formar anticuerpos como sería el hígado.
3. Mecanismo de inhibición central del sistema Ag- Ac, en este caso, la acción protectora del anti-D pasiva es en las células, mismas que forman Ac y la producción de Ac inmunitarios se impide a través de un mecanismo de retroalimentación.

Como el mecanismo de profilaxis es mediante la administración pasiva de anticuerpos, no es una vacuna y tiene un efecto temporal, por lo cual debe repetirse la dosis en cada acto inmunizante. La IgRhD adecuadamente preparada mediante doble inactivación viral, como otras preparaciones de inmunoglobulinas, es un hemoderivado seguro que tiene un escaso riesgo de transmisión viral. Cada microgramo (µg) equivale a cinco unidades internacionales (UI).<sup>15</sup>

### Usos de la inmunoglobulina anti-D

Cuando una sustancia extraña (antígeno) entra en contacto con el sistema inmunitario de un individuo, generalmente se produce una respuesta inmunitaria, ya sea mediada por células (inmunidad celular) o por anticuerpos (inmunidad humoral). Cuando la respuesta inmunitaria mediada por anticuerpos es producida por antígenos de individuos de la misma especie se denomina aloinmunización. En el hombre, esto ocurre usualmente ante transfusiones de hemocomponentes, compartir jeringas en la drogadicción intravenosa, gestaciones y/o trasplante de órganos y tejidos.

Cuando la mujer embarazada carece de los antígenos que el feto posee en sus glóbulos rojos y éstos penetran en la circulación materna, puede producirse una respuesta inmunitaria. La enfermedad hemolítica perinatal (EHP) es una patología típicamente producida por una reacción de hipersensibilidad tipo II mediada por anticuerpos dirigidos contra antígenos de la superficie celular.<sup>7</sup>

La formación de las células sanguíneas en el embrión humano comienza en la tercera semana de gestación y el antígeno D del sistema Rh ha sido demostrado en la membrana eritrocitaria a partir del día 38. Se han encontrado eritrocitos fetales en la circulación materna en los abortos espontáneos o provocados en el curso del primer

trimestre, por lo que existe riesgo de inmunización. La dosis mínima para producir una inmunización primaria sería de 0.01 a 0.03 mL de glóbulos rojos fetales, lo que equivale a un eritrocito fetal cada 100.000 maternos.<sup>7</sup>

En la práctica, el volumen de sangrado de una hemorragia fetomaterna (HFM) es variable, siendo en 99.5% de los casos menor de 15 mL. Sin embargo, un tercio de los individuos de la especie humana no responde a la estimulación antigénica (tolerancia inmunológica), es decir, no forman anticuerpos a pesar de entrar en contacto con el antígeno. Este carácter estaría regulado genéticamente por los genes de respuesta inmunitaria. A su vez, la incompatibilidad en el sistema ABO entre madre y feto disminuye el riesgo de aloinmunización y aproximadamente un tercio de las mujeres RhD negativo tendrá fetos también RhD negativo. Por lo tanto, el riesgo de inmunización anti-D por embarazo es de alrededor de 15%.<sup>7</sup>

Si los anticuerpos maternos corresponden a la clase inmunoglobulina G (IgG) cruzan la placenta hacia el feto frecuentemente en embarazos subsiguientes, y se produce una reacción antígeno-anticuerpo *in vivo* cuando las células fetales poseen el antígeno correspondiente. Se dice entonces que la madre está aloinmunizada a antígenos de glóbulos rojos humanos y que los eritrocitos fetales se encuentran sensibilizados, pues tienen el anticuerpo unido al antígeno presente en su membrana celular.<sup>15,16</sup> Estos glóbulos rojos sensibilizados con la IgG son retirados de la circulación fetal por los macrófagos del sistema retículo endotelial, principalmente en el bazo, que tienen receptores para la fracción Fc de la inmunoglobulina o C3b del complemento, produciéndose una hemólisis extravascular.<sup>7,16</sup>

Los anticuerpos de la clase IgG (monómeros) cuando se unen al antígeno de la membrana de los eritrocitos no producen aglutinación, dado que la distancia entre los dos fragmentos Fab (sitios de unión al antígeno) del anticuerpo no alcanzan a cubrir la distancia intercelular (50-100 Å) entre dos glóbulos rojos determinada por el potencial zeta. En el caso de las moléculas de IgM (pentámeros) más grandes se produce aglutinación directa.<sup>7</sup>

Para detectar la presencia del anticuerpo IgG por la técnica de aglutinación es necesario utilizar el suero de Coombs,<sup>18</sup> procedimiento descrito en 1945 por Coombs, veterinario que inyectó a un conejo inmunoglobulinas humanas produciendo en el animal una respuesta inmunitaria humoral. Dado que la fracción Fc de la IgG humana es la fracción antigénica de la molécula, los fragmentos Fab del anticuerpo del conejo (antiglobulina humana) se unen a los Fc de la IgG unida a los eritrocitos formando un puente y haciendo visible su presencia mediante la

aglutinación de los glóbulos rojos. La magnitud de la aglutinación suele ser proporcional a la cantidad de IgG fijada.<sup>5,7</sup>

### Inmunoprofilaxis antes del parto

La IgRhD debe administrarse a una mujer RhD negativo con pruebas para anticuerpos anti-D negativo, luego de cualquier acontecimiento obstétrico capaz de permitir el ingreso de células fetales a la circulación materna: el aborto espontáneo o terapéutico, el embarazo ectópico, la amniocentesis, la extracción de muestras de vellosidades coriónicas, la cordocentesis, la hemorragia anteparto o la muerte fetal entre otros.<sup>2,7,19-21</sup>

Si cualquiera de estas posibilidades ocurre antes de las 13 semanas de gestación, una dosis de 50 µg de IgRhD es adecuada para proteger contra el pequeño volumen HFM durante el primer trimestre. Desde las 13 semanas en adelante hasta el término se debe dar una dosis de IgRhD de 250-300 µg intramuscular o 120 µg intravenosa.<sup>2,7</sup>

Se administra también IgRhD antes del parto entre las 28 y 32 semanas de gestación, dado que de las mujeres que desarrollan anticuerpos anti-D durante el embarazo, 92% lo hacen a esta edad gestacional.<sup>7,21</sup>

Las mujeres RhD negativo aloinmunizadas, pero con anticuerpos diferentes al D (por ejemplo anti-c, anti-e, anti-C, anti-E, anti-Kell) son candidatas a la administración de IgRhD para evitar que se agregue un anticuerpo anti-D.<sup>1,7</sup>

No se debe administrar IgRhD a las mujeres embarazadas RhD positivo, D débil, ni a las que ya están aloinmunizadas.<sup>7</sup>

### Inmunoprofilaxis postparto

La sangre de cordón de recién nacidos de madres D negativo se debe someter a pruebas para grupo sanguíneo ABO, RhD y la prueba de Coombs directa (CD). Una mujer RhD negativo cuyo recién nacido es RhD negativo no debe recibir IgRhD. En caso de que el recién nacido sea RhD positivo o Du con CD negativa, la madre debe recibir una dosis de 300 µg de IgRhD intramuscular o 120 µg intravenosa lo antes posible dentro de las 72 horas posteriores al parto. Si pasan más horas es mejor hacer la inmunoprofilaxis que no hacerla. En algunos casos ha sido efectiva aún administrada hasta 13 días después del parto.<sup>7,19,21</sup>

Una mujer embarazada Rh negativo con prueba de Coombs indirecta negativa (CI) puede tener también un RN con CD positiva debido a un conflicto ABO, por lo cual debe recibir inmunoglobulina anti-D postparto. Una

mujer embarazada Rh negativo con CI positiva por un anticuerpo diferente al D (anti-C, anti-e, anti-Kell) puede tener un RN RhD positivo con CD positiva o negativa. En ambos casos debe recibir inmunoprofilaxis anti-D postparto.

Un RN Rh D positivo puede tener una CD positiva porque la madre Rh D negativo también presenta una CD positiva por autoanticuerpos (casi siempre antifosfolípidos) que pasan la placenta. En estos casos también debe realizarse inmunoprofilaxis cuando el RN es Rh D positivo.

En Uruguay se utiliza una preparación intravenosa de anti-D para la supresión de la inmunización anti-D. Se recomienda una dosis de 120 µg (600 UI) de IgRhD intravenosa dentro de las 72 posteriores al parto, dado que con la administración intravenosa se alcanza una concentración plasmática de IgRhD 2.5 veces superior y más precozmente que la intramuscular. La administración intravenosa tiene como ventajas que se necesita menos dosis, es de acción más rápida, no depende de la superficie corporal y es menos costosa. Administrar una dosis de 120 µg intramuscular antenatal y otra igual postparto tiene un costo promedio similar al suministro de una sola dosis intramuscular postparto de 300 µg.<sup>7</sup>

No existe un criterio universal para la inmunoprofilaxis anti-D. La dosis de inmunoglobulina anti-D a administrar así como las pruebas para determinar el volumen de la hemorragia fetomaterna varían de un país a otro.<sup>7,21,22</sup>

#### Transfusiones incompatibles de eritrocitos en pacientes Rh (D) negativo

La dosis recomendada es de 20 µg (100 UI) de inmunoglobulina anti-D por cada 2 mL de sangre Rh (D) positivo transfundida o por 1 mL de concentrado de eritrocitos. Se deben realizar pruebas de seguimiento para detectar los eritrocitos Rh (D) positivo cada 48 horas y administrar inmunoglobulina anti-D adicional hasta que los eritrocitos Rh (D) positivo hayan sido eliminados de la circulación. Una dosis máxima de 3,000 µg (15.000 UI) es suficiente incluso si más de 300 mL de sangre Rh (D) positivo o 150 mL de concentrado de eritrocitos fueran transfundidos.<sup>7,21</sup>

#### CONSIDERACIONES FINALES

La obtención de la gammaglobulina anti-D relaciona todas las actividades de la cadena transfusional desde la promoción, reclutamiento y selección de donantes hasta la vigilancia de efectos adversos después del uso del producto.

A pesar de la importancia que posee el uso de este hemoderivado en la prevención de la EHFRN y en las

transfusiones incompatibles, su disponibilidad y cobertura para la asistencia sanitaria no ha alcanzado la magnitud que requiere.

Varios factores inciden sobre este aspecto, la falta de criterio unificado para los esquemas de inmunización que se aplican a los donantes, la necesidad de reclutar y fidelizar donantes voluntarios, aspectos éticos y económicos, entre otros elementos logísticos.

La obtención de inmunoglobulina anti-D mediante el uso de anticuerpos monoclonales resulta ventajosa y promisorio, pero aún no es técnicamente posible su producción.

#### REFERENCIAS

1. Ballester Santovenia JM, Alfonso Valdés ME, Bencomo Hernández AA, Macías Abraham C. ABC en medicina transfusional. Guías clínicas. Cuba 2da ed. La Habana: Instituto de Hematología e Inmunología; 2016.
2. Lambertino MJ, Villegas GS. Aloinmunización Rh en mujeres gestantes, una mirada al diagnóstico y a su aproximación terapéutica. *Ginecol Obstet Mex* 2014; 82: 744-754. [citado 13 febrero 2019] Disponible en: <http://www.femecog.org.mx>.
3. Vázquez M, Castillo D, Pávez Y, Maldonado M, Mena A. Frecuencia de antígenos del sistema sanguíneo Rh y del sistema Kell en donantes de sangre. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter Ciudad de la Habana*. 2015 [citado 14 marzo 2019]: 31 (2): Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892015000200007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892015000200007).
4. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. 11th ed. London: Blackwell Scientific Publications; 2009.
5. Barrera, MF. Incompatibilidades sanguíneas materno-fetales en recién nacidos atendidos en el servicio de neonatología del hospital José María Velasco Ibarra. Enero-Junio 2010. 2014. [Citado 14 marzo 2019] Disponible en: <http://dspace.esoch.edu.ec/handle/123456789/3444>.
6. Hernández M, Iglesias T, Abascal H. Isoinmunización ABO en recién nacidos en Pinar del Río. 2017 [citado 13 marzo 2019]: 21 (4): Disponible en: <http://revcmpinar.sld.cu/index.php/publicaciones/article/view/3152/html>.
7. Decaro J. Prevención de la inmunización anti-RhD en la gestación y transfusión de hemocomponentes. *Arch gin obstet*. 2009; 47 (1-3): 18-29. [Citado 13 marzo 2019] Disponible en [http://www.clausen.com.uy/img/experiencia\\_clinica/03\\_actualizacion\\_diagnostica\\_terapeutica.pdf](http://www.clausen.com.uy/img/experiencia_clinica/03_actualizacion_diagnostica_terapeutica.pdf).
8. Colectivo de Autores. Manual técnico. El sistema Rh. P 389-410. 17ma edición. 2008.
9. Fernández I, Moreno R, Olivera D. Propuesta de inmunización para donantes de plasmaféresis anti-D. *Rev Medicentro*. 2012; 16 (2):
10. Genetet B, Mannoni P. Donación de sangre. Extracción y organización. En: Genetet B, Mannoni P. La transfusión. La Habana: Científico-Técnica; 1984.
11. Molé JR et al. Programa de plasmaféresis productiva e inmunización de donantes anti-D en Manzanillo. *Multimed* 1997; [citado 14 marzo 2019] : 1 (3). Disponible en: <http://www.multimedgrm.sld.cu/articulos/1997/V1-3/8.html>.
12. Ministerio de Salud Pública. Regulación 35-2003. Requisitos del plasma humano como materia prima farmacéutica. CECMED. [Citado 18 enero 2019] Disponible en: [http://www.cecmecd.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/Reg\\_35-03.pdf](http://www.cecmecd.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/Reg_35-03.pdf).



13. Recommendations for the production, control and regulation of human plasma for fractionation. World Health Organization. WHO Technical Report Series No 941, 2007. [Cited 14 March 2019] Available in: <https://www.who.int/biologicals/publications/ECBS%202005%20Annex%204%20Human%20Plasma%20Fractionation.pdf>.
14. Cabrera L, Vega, MC. Implementación de metodología para la producción de Inmunoglobulinas específicas en la ESPH "Adalberto Pesant" y desarrollo de estrategias para garantizar el suministro adecuado de plasma hiperinmune. 2013 [Citado 18 enero 2019] Disponible en: <https://www.researchgate.net>.
15. Rhophylac. Ficha técnica. CSL Behring GmbH. 2015 [Citado 18 enero 2019] Disponible en: <https://botplusweb.portalfarma.com/documentos/2015/11/5/92976.pdf>.
16. Albuja D. Frecuencia de eritroblastosis en recién nacidos que presentan hiperbilirrubinemia en el Hospital Gineco-Obstétrico Isidro Ayora de Quito, 2015. Disertación de grado. [Citado 14 marzo 2019] Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/13289/>.
17. Ugarte L, Cuadra M, Lete I, Lapuente O, González J. Enfermedad hemolítica perinatal causada por anticuerpos anti-M y tratada con Inmunoglobulinas intravenosas fetales. *Progresos de Obstetricia y Ginecología*. 2015; [Citado 13 marzo 2019]: 58 (7): 327-329. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pog.2015.02.012>.
18. Vizueta C, López B, Balon J, Zambrano R. Incompatibilidad Rh en el embarazo. *Dom Cien*. ISSN: 2477-8818, pp. 32-46. 2017 [Citado 13 marzo 2019]; 3 (4): Disponible en: <https://dominiodelasciencias.com/ojs/index.php/es/index>.
19. Donoso E. Uso de la inmunoglobulina anti-D en la prevención de la isoimmunización Rh. [Citado 13 febrero 2019] Disponible en: <http://www.arsmedica.cl/index.php/MED/about/submissions#authorGuidelines>.
20. McBain RD, Crowther CA, Middleton P. Anti-D administration in pregnancy for preventing Rhesus alloimmunisation. 2015 [Cited 14 March 2019]. Available in: [https://www.cochrane.org/CD000020/PREG\\_anti-d-administration-pregnancy-preventing-rhesus-alloimmunisation](https://www.cochrane.org/CD000020/PREG_anti-d-administration-pregnancy-preventing-rhesus-alloimmunisation).
21. Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad Hemolítica por Isoimmunización a Rh en el Recién Nacido. Guía de Evidencias y Recomendaciones: Guía de Práctica Clínica. México, CENETEC; 2018 [Citado 13 marzo 2019]. Disponible en: <http://imss.gob.mx/profesionales-salud/gpc>.
22. Inmunoglobulina anti-RhO. Formulario Nacional de Medicamentos. Cuba. 2018. [Citado 18 enero 2019] Disponible en: <http://fmedicamentos.sld.cu/index.php?P=FullRecord&ID=381>.