

Instituto de Hematología e Inmunología

ENFERMEDAD HEMOLÍTICA PERINATAL

Dra. María del Rosario López de Roux y Dr. Lázaro Cortina Rosaes

RESUMEN

La enfermedad hemolítica perinatal (EHPN) es una afección inmunológica aloinmune contra antígenos de origen paterno presentes en los hematíes fetales y del recién nacido. Se han reportado numerosos aloanticuerpos dirigidos contra antígenos eritrocitarios como causa de la EHPN, más frecuentemente los del sistema ABO y Rh. La EHPN por el sistema Rh (EHPN-Rh) suele ser severa, en particular por el antígeno D. Es muy común encontrar el anti-D asociado con otros anticuerpos Rh (C, E, de título menor). El anticuerpo anti-c por sí solo puede producir EHPN severa. Los avances en la prevención de la inmunización por el antígeno D han disminuido la incidencia de esta enfermedad. La EHPN por ABO (EHPN-ABO) ha sido siempre más frecuente, pero su relación con muerte fetal o neonatal es menor que la de la EHPN-Rh. En este tipo de EHPN los anticuerpos están preformados. Las subclases de IgG, predominantes en esta enfermedad son las IgG1 y las IgG3. A la luz de los conocimientos actuales, el diagnóstico de esta enfermedad puede efectuarse precozmente, es posible incluso hacerlo antes del nacimiento e indicar la transfusión fetal intrauterina como método de salvamento de los fetos con hematocritos (Hto) menores o iguales al 30 %. En los recién nacidos se emplean la fototerapia y la exanguinotransfusión para disminuir los niveles séricos de bilirrubina producida por la hemólisis y evitar el kerníctero. Siempre que se sospeche la enfermedad deberá actuarse con rapidez y precisar los anticuerpos involucrados, para de esta forma disminuir su incidencia y morbimortalidad.

Descriptores DeCS: ERITROBLASTOSIS FETAL/diagnóstico; TRANSFUSIÓN DE SANGRE INTRAUTERINA; ISO-INMUNIZACIÓN RH.

La enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido es una afección inmunológica aloinmune, en la cual la sobrevida del hematíe fetal y del recién nacido está acortada debido a la acción de anticuerpos maternos que pasan a través de la placenta y que son específicos contra antígenos de origen paterno presentes en las células rojas fetales y del recién nacido.

En 1609, la partera *Louyse Bourgeois*, describió en la prensa laica francesa el nacimiento de gemelos. El primero, fue una niña hidrópica que murió a las pocas horas del nacimiento. El segundo gemelo fue un niño, que nació bien, pero en las primeras horas de vida presentó un íctero intenso y en posición de opistótonos falleció.^{1,2}

Otros casos similares fueron descritos, hasta que en 1882, *Ballantyne* los reunió en una entidad nosológica denominada *Hidrops foetalis universalis*. En 1932, *Diamond*, *Blackfan* y *Batty* unificaron todos estos síndromes en una entidad que llamaron *Erythroblastosis foetalis*.²

En 1939, *Levine* y *Stetson* reportaron una reacción postransfusional en una mujer después del parto de un niño hidrópico. La madre presentó una hemorragia posparto y fue transfundida con sangre de su esposo. *Levine* demostró que la paciente tenía un anticuerpo que aglutinaba las células del esposo y postuló que se había inmunizado contra un antígeno fetal heredado del padre.^{3,4}

En 1940, *Landsteiner* y *Wiener* determinaron el antígeno responsable y realizaron experimentos donde reportaron que el suero procedente de conejos previamente inmunizados con células rojas de monos *rhesus* contenía un anticuerpo que aglutinaba el 85 % de los hematíes de sujetos caucásicos. Tales sujetos fueron llamados *rhesus* positivos (Rh positivos). El 15 % restante presentaba células que no aglutinaban con este suero y a estas se les llamó *rhesus* negativos (Rh negativo).³ Este experimento sirvió de marco a la inmunohematología moderna.⁴ *Levine* y otros usando el suero anti-Rh de *Landsteiner* y *Wiener*, determinaron que las pacientes reportadas en 1939 eran Rh negativas y que tenían un anticuerpo anti-Rh que aglutinaba los hematíes de sus esposos e hijos, demostrando así la etiología de la enfermedad.^{1,3-5}

Posteriormente, *C. Smith* denominó a esta entidad enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido, a la que hoy en día, dada la extensión de los conocimientos sobre ella, se le denomina enfermedad hemolítica perinatal (EHPN).²

Desde entonces hasta la fecha han ocurrido grandes progresos en el conoci-

miento de los grupos sanguíneos que han permitido precisar que la EHPN no sólo se debe a anticuerpos contra el antígeno D, sino que también están involucrados otros antígenos del sistema Rh, el sistema ABO y de otros sistemas antigénicos; con los avances científicos en el diagnóstico, profilaxis y tratamiento de esta entidad se ha logrado disminuir su incidencia y morbimortalidad.

ETIOPATOGENIA DE LA EHPN

La etiopatogenia de esta enfermedad está basada en la incompatibilidad de grupo sanguíneo materno-fetal, cuando los eritrocitos fetales poseen antígenos de origen paterno carentes en los glóbulos rojos de la madre. Esto origina el desarrollo de una respuesta inmunitaria en la madre, y paso de anticuerpos (del tipo IgG) a través de la placenta. Estos anticuerpos se unen a la membrana del hematíe fetal y facilitan su hemólisis (excepto en la EHPN por ABO (EHPN-ABO), donde los anticuerpos están preformados).

Resumiendo, para que la enfermedad se produzca es necesario:

- Incompatibilidad de grupo sanguíneo materno-fetal.
- Aloinmunización materna específica contra un determinado antígeno fetal.
- Paso de anticuerpos maternos al organismo fetal.
- Acciones derivadas de la unión de los anticuerpos maternos sobre los hematíes fetales.

INCOMPATIBILIDAD DE GRUPO SANGUÍNEO MATERNO-FETAL

La incompatibilidad de grupo sanguíneo materno-fetal se establece

cuando un hijo hereda del padre un gen ausente en la dotación genética de la madre. Para que se produzca la EHPN es necesario que el antígeno codificado por el gen paterno sea capaz de:

- Poseer fuerza en su expresión y ocupar un gran número de sitios antígenicos sobre la membrana del hematíe.
- Estimular la formación de un anticuerpo de clase IgG, excepto en la EHPN-ABO.

Se han reportado numerosos aloanticuerpos dirigidos contra antígenos eritrocitarios como causa de la EHPN (tabla 1).^{1,4}

Los anticuerpos que con mayor frecuencia producen EHPN son los del sistema ABO y Rh.^{1,2,4,6}

En la literatura se señala que aproximadamente las dos terceras partes de los casos de EHPN se deben a incompatibilidad ABO.⁷ Su incidencia y severidad no muestran un comportamiento universal, pues en países anglosajones es una entidad clínica muy benigna y es muy raro que el recién nacido requiera de exanguinotransfusión (ET); sin embargo, en países de Sudamérica, el Caribe, Medio Oriente, Asia y África, la incompatibilidad ABO es causa de EHPN severa.^{8,9}

La EHPN por el sistema Rh (EHPN-Rh), suele ser severa, en particular por el antígeno D, la cual llegó a tener una incidencia del 18 %.¹⁰ Con la introducción de la inmunoprofilaxis con gammaglobulina anti-D, su incidencia disminuyó espectacularmente hasta aproximadamente el 1 %.¹⁰⁻¹² Su ocurrencia actual obedece a:¹¹

1. Inmunizaciones producidas durante el embarazo.
2. No administración de gammaglobulina anti-D profiláctica después del parto de un hijo Rh positivo, después de un aborto u otro evento inmunizante (transfusiones mal compatibilizadas).
3. Administración de una dosis insuficiente de gammaglobulina anti-D para cubrir un gran estímulo antigénico.¹³

Otros anticuerpos que producen EHPN severa son los anti-Kell, anti-S, anti-s y anti-Tj^a (PP¹P^k).¹⁻⁴ La evaluación de la EHPN por anti-Kell causa supresión de la eritropoyesis en el feto más que destrucción de los glóbulos rojos. Por lo tanto, la concentración de bilirrubina en líquido amniótico puede ser baja en relación con la severidad de la anemia fetal.⁸ Todos los demás anticuerpos producen casos de EHPN moderados o leves.²

TABLA 1. Anticuerpos relacionados con la enfermedad hemolítica perinatal

Sistemas	Anticuerpos
ABO	Anti-A, -B, -AB
Rh	Anti-D, -c, -C, -C ^w , -C ^x , -e, -E, E ^w , -ce, -Ce ^s , -Rh32, -Go ^s , -Be ^s , -Evans, -LW
Otros	Anti-K, -k, -Ku, -Kp ^a , -Kp ^b , -Js ^a , -Js ^b , -Fy ^a , -Fy3, -Jk ^a , -Jk ^b , -M, -N, -S, -s, -U, -Vw, -Far, -M ^s , -Mit, -Mt ^a , -Mur, -Hil, -Hut, -En ^a , -PP, P ^k , -Lu ^a , -Lu ^b , -Lu9, -D ^h , -D ^p , -Y ^e , -Y ^h , -Do ^a , -Co ^a , -W ^r ^a
Antígenos de baja incidencia	Anti-Bi, -By, -Fr ^a , -Good, Rd, -Re ^a , -Zd
Antígenos de alta incidencia	Anti-At ^a , -Jr ^a , -Lan, -Ge

Aunque la EHPN-ABO ha sido siempre más frecuente, su relación con muerte fetal o neonatal es menor que la de la EHPN-Rh; por eso profundizaremos en esta última.

EHPN-RH

El estímulo antigénico puede producirse por:

Gestación: la placenta es una membrana activa y selectiva, cuyo carácter dinámico condiciona el tránsito en los 2 sentidos. El punto de contacto directo entre las circulaciones útero-feto-placentarias es el trofoblasto, unidad funcional compuesta del lado materno por la sangre del espacio intervilloso y del lado fetal por la de los capilares vellosos. La presión en los capilares de las vellosidades no ha sido medida, pero se estima que es menor en el lado materno, lo que explicaría el paso de los hematíes fetales a la circulación materna, incluso en condiciones normales.²

Utilizando la prueba de resistencia a la elución ácida de la hemoglobina fetal, se ha demostrado que ocurre hemorragia feto-materna (HFM) en el 3 % de las embarazadas en el primer trimestre, en el 12 % durante el segundo, en el 45 % en el tercer trimestre y en el 64 % inmediatamente después del parto,⁴ y es mayor si el nacimiento es por cesárea.

Con el desarrollo de la tecnología, específicamente con el uso de la citometría de flujo, se han encontrado progenitores de células rojas nucleadas fetales en la circulación materna desde épocas tempranas de la gestación.¹⁴

Ciertas situaciones obstétricas incrementan el riesgo de HFM,² como son:

- Enfermedades de la gestante: toxemia gravídica, diabetes, cardiopatía, hipertensión arterial crónica.

- Gestaciones anormales: embarazo ectópico, aborto, placenta previa, placenta acreta, coriosarcoma, corioangioma, óvito fetal.
- Manipulación uterina: versión externa, amniocentesis, transfusión intraútero, biopsia coriónica.
- Parto: anestesia general, parto distócico, fórceps, cesárea, maniobra extractiva, remoción manual de la placenta¹⁵ y uso de la oxitocina para favorecer la dinámica del trabajo de parto.
- Otras:¹⁵ trauma abdominal cerrado, sobre todo en el tercer trimestre y embarazos gemelares.

Los antígenos Rh están bien desarrollados entre los 30 y 45 días de la gestación.^{3,5} Después de un aborto provocado o terapéutico, alrededor del 4 % de las mujeres tienen HFM de más de 0,2 mL.⁴

Mollison plantea que después de un aborto provocado, 0,125 mL o más de sangre fetal pasan a la madre y que después de un aborto espontáneo el paso de sangre fetal nunca excede los 0,05 mL.¹⁶

Hemoterapia: todos aceptan que durante mucho tiempo constituyó un punto muy discutido, el hecho de si grandes volúmenes de sangre incompatible provocaban un efecto sensibilizante, o si por el contrario, lo provocaban pequeños volúmenes.

Basado en estudios con voluntarios sanos Rh negativos, las cantidades de sangre D-positivas requeridas para producir inmunización Rh pueden ser muy pequeñas.²

En un experimento, 2/3 de los voluntarios quedaron inmunizados con 5 inyecciones de 3,5 mL de sangre D-positiva; en otro experimento el 80 % se inmunizó con una inyección de 0,5 mL de sangre D-positiva y el 30 % con inyecciones repetidas de 0,1 mL de sangre D-positiva. La prevalencia de la

inmunización, dependió de la dosis de células D-positivas administradas, y fue del 15 % después de la administración de 1 mL y entre el 65 y 70 % después de 250 mL. Se concluyó, por lo tanto, que las transfusiones de sangre incompatibles constituyen eventos muy aloinmunizantes.^{1,4}

LA ALOINMUNIZACIÓN

No todas las mujeres Rh negativas que tienen hijos de hombres Rh positivos se inmunizan. Se plantea que entre el 25 y 30 % de las mujeres D-negativas son no respondedoras,^{1,4} el resto es catalogado como respondedoras. La razón por la cual mujeres con riesgo no desarrollan esta sensibilización, todavía no está clara. Existen teorías que apuntan hacia una supresión de células T, inducción de un estado de tolerancia por pequeñas cantidades de antígenos y la posibilidad de que existan bajos títulos de anti-D que no pueden ser detectados por los métodos de diagnóstico disponibles.³

Hay fuertes evidencias del control genético de la respuesta inmune.¹⁷ Hasta el momento no se han encontrado asociaciones importantes con el sistema HLA entre las respondedoras y las no respondedoras, aunque 2 grupos de investigadores reportaron un aumento significativo del DRw6 entre las respondedoras.²

Se ha demostrado que el genotipo paterno influye en la inmunización materna por el antígeno, *Mollison, Engelfriet y Contreras* en 1987 probaron que los individuos con haplotipos R² (DcE) predominan en la aloinmunización sobre los individuos con haplotipo R¹ (DcE).¹⁶

La incompatibilidad ABO confiere cierta protección parcial contra la inmunización por Rh¹.⁵⁻¹⁸ La incidencia de

inmunización por Rh, 6 meses después de un parto ABO incompatible, con un feto además D-positivo, es entre el 1,5 % y el 2 %.¹⁹ La protección parcial es probable que se produzca como resultado de la hemólisis intravascular rápida de los eritrocitos ABO incompatibles. Las células D-positivas se destruirían en el bazo por los macrófagos presentes en este órgano. Esta protección es solo frente a la inmunización primaria contra el antígeno D. No ocurre así una vez que la madre está sensibilizada.⁶

La *respuesta primaria* se produce a continuación de la primera exposición a un antígeno extraño. Es una respuesta débil y lenta. El estímulo para producirla debe ser lo suficientemente intenso y mayor como para producir una respuesta secundaria a dicho antígeno. En esta etapa de la respuesta inmune los anticuerpos que se producen son de tipo IgM y pueden aparecer tan tempranamente como a las 4 semanas después del estímulo; usualmente la respuesta oscila entre 8 y 9 semanas.^{1,4} El anticuerpo IgM no atraviesa la placenta, por eso en el caso de un primer embarazo con feto D-positivo y sin evento aloinmunizante anterior, el niño no se afecta.

Una vez que la respuesta primaria se ha desarrollado, basta con un pequeño estímulo para que se desencadene la *respuesta secundaria*. Esta puede ocurrir después de la exposición de cantidades pequeñas como 0,03 mL de sangre D-positiva.^{1,4} El título de anticuerpos se eleva a las 48 horas y alcanza su punto máximo a los 6 días. Generalmente los anticuerpos producidos en esta etapa son de tipo IgG, los cuales si atraviesan la placenta, se unen a las células rojas fetales y las destruyen por 2 mecanismos:

– Activando el sistema del complemento hasta la fase de lisis celular (hemólisis intravascular).

– A través de la unión del anticuerpo anti-D a los receptores Fc de los macrófagos, produciéndose a nivel del bazo la lisis de los eritrocitos (hemólisis extravascular).

En el caso de los anticuerpos del sistema Rh, Duffy, Kell y otros, los hematíes son destruidos por el segundo mecanismo.

El grado de avidez del anticuerpo anti-Rh por el antígeno Rh es el responsable de la severidad de la EHPN.

PASO DE ANTICUERPOS MATERNOS AL FETO

Los anticuerpos IgG pasan activamente a través del trofoblasto a la circulación fetal, puesto que este tejido posee receptores para la fracción Fc de esta inmunoglobulina. Una vez reconocida la molécula de IgG, esta es transportada al interior del trofoblasto en una vesícula endocítica y llevada hasta el lado fetal, donde se produce la exocitosis de la IgG a la circulación fetal.

En el primer trimestre del embarazo el paso es lento y pequeño. Solo es significativo cuando la concentración de anticuerpos anti-Rh es alta. Esto fue demostrado por *Chown's* (1955) y *Mollison* (1951) en fetos de 6 a 10 semanas, que presentaban una prueba de antiglobulina directa (PAD) positiva.²

Hay pruebas de que la intensidad del estímulo antigénico y la modalidad de la aloinmunización condicionan la producción de subclases de IgG. La mayoría de los casos presenta más de una subclase de IgG, pero son predominantes las IgG1 y las IgG3.^{1-3,4}

Las IgG2 y las IgG4 sensibilizan a los hematíes fetales, pero no disminuyen su vida media debido a la poca o ninguna unión a los receptores Fc de los macrófagos y a la no activación del sistema del complemento.²

La IgG1 pasa a la circulación fetal a las 26 semanas de gestación. Por sus características produce una anemia más intensa y de forma precoz, aunque *in vitro* sea menos hemolítica que la IgG3.

La IgG3 pasa a la circulación fetal entre las 28 y las 32 semanas de gestación y produce anemia de forma tardía e hiperbilirrubinemia en el recién nacido.

La capacidad de la IgG3 de unirse a los receptores Fc de los macrófagos es mayor que la de los anticuerpos IgG1. En experimentos *in vitro* se ha comprobado que la IgG3 es más potente y letal que la IgG1;^{2,20} probablemente se deba a que el aclaramiento de células Rh positivas es causado por menos moléculas de IgG3 anti-D que de IgG1 anti-D.^{9,20,21} La EHPN causada por IgG3 sola se observa con menor frecuencia, y los títulos de anticuerpos anti-D son más bajos y el cuadro clínico moderado, caracterizado por anemia tardía e hiperbilirrubinemia en el recién nacido. La combinación de estas 2 subclases produce una enfermedad hemolítica perinatal mas severa.^{1,4}

ACCIONES DERIVADAS DE LA UNIÓN DE LOS ANTICUERPOS MATERNOS SOBRE LOS HEMATÍES FETALES

Las células rojas fetales recubiertas de IgG actúan como opsoninas para las células efectoras (monocitos y/o macrófagos) a la fagocitosis o provocando la activación del sistema de complemento.

La fagocitosis puede ser parcial o completa. En el caso de la fagocitosis parcial, los eritrocitos fetales recubiertos por anticuerpos pierden fragmentos de membrana y se produce una disminución de la relación entre la superficie de la célula y el volumen, se convierten en esferocitos con pérdida de la deformabilidad y no

pueden atravesar los espacios interendoteliales del bazo; retenidos en esta zona son atrapados por los macrófagos y fagocitados. La fagocitosis completa se realiza en la pulpa roja del bazo, donde la sangre está más concentrada y circula lentamente. Esto ocasiona la destrucción de los hematíes extracorpúscularmente, lo que explica la ausencia de hemoglobinuria.²

La evidencia de que la destrucción eritrocitaria ocurre en los macrófagos se demostró al encontrar hemosiderina en el interior de estas células.⁵

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Las manifestaciones clínicas de la EHPN son el resultado del grado de hemólisis y de producción compensatoria de eritrocitos del feto. En general mientras más intensa es la reacción, más graves son las manifestaciones clínicas y mayor el riesgo de daño del SNC causado por la hiperbilirrubinemia.⁶

ICTERICIA

La mayoría de los recién nacidos no tienen ictericia al nacer, porque toda la bilirrubina fetal es aclarada por el hígado materno.

La ictericia aparece dentro de las primeras 24 horas después del nacimiento y alcanza el máximo nivel entre el 3^{ro}. y 4^{to}. días en los neonatos no tratados.^{2,3,13} La aparición de la ictericia se debe a la incapacidad del recién nacido para excretar la bilirrubina derivada de la lisis del hematíe. Cada gramo de Hb degradada se transforma aproximadamente en 35 mg de bilirrubina.⁶ Una vez separado de la placenta, el recién nacido no es capaz de excretar una carga excesiva de bilirrubina, ya que esta se excreta en forma conjugada con ácido

glucurónico, proceso que ocurre a nivel hepático dependiente de la enzima glucoronitransferasa.^{3,6,13} En los recién nacidos y prematuros la actividad de esta enzima es baja. Además el hígado fetal es deficiente en 2 proteínas de transporte, X y Y, que son necesarias para el transporte activo de la bilirrubina en los conductos biliares. Concluyendo, la ictericia es el resultado del aumento en la producción de bilirrubina secundaria a la hemólisis y suele agravarse por la inmadurez hepática.

La bilirrubina indirecta es liposoluble e insoluble en agua y circula en plasma unida a la albúmina. Cuando la capacidad de unión a la albúmina es excedida, comienza a aparecer bilirrubina libre en plasma, que difunde hacia los tejidos. Las membranas celulares están compuestas por una bicapa lipídica, lo cual favorece su difusión. El contenido lipídico de las membranas del tejido nervioso es superior al de otros tejidos, lo que explica la alta afinidad de la bilirrubina indirecta por este, y ocasiona alteraciones en la función de las mitocondrias neuronales y por consiguiente muerte neuronal.⁶ La acumulación de bilirrubina en el tejido nervioso da lugar al *kernicterus*. Los infantes manifiestan signos de disfunción cerebral como: letargo e hipertonicidad, adoptan una posición de opistótonos, desaparece el reflejo del Moro, pueden presentarse convulsiones y finalmente arritmia respiratoria y muerte. Alrededor del 10 % de los recién nacidos con signos y síntomas de *kernicterus* no sobreviven, los que sobreviven, luego son niños con retardo intelectual severo, parálisis cerebral, sordera, estrabismo, etc.¹⁸

ANEMIA

El grado de anemia depende de la capacidad de la médula ósea para producir hematíes en respuesta al proceso hemolítico.

Al nacer, la mayoría de los recién nacidos se ven relativamente normales, con anemia mínima y discreta hepatoesplenomegalia. Entre el 45 y 50 % de los recién nacidos afectados no requieren tratamiento, sus cifras de Hb de cordón umbilical oscilan entre 110 y 130 g/L y las cifras séricas de bilirrubina indirecta de cordón no exceden los 340 $\mu\text{mol/L}$ (200 mg/L). Existe un 25-30 % de los recién nacidos donde la anemia es moderada y la eritropoyesis es insuficiente para mantener un adecuado nivel de Hb fetal, el íctero es severo con riesgo de kerníctero, menos en los tratados antes del nacimiento. Cuando la anemia es severa, aparecen fallos orgánicos severos y se desarrolla el *hidrops* fetal. Entre el 20 y 25 % de los fetos en estas condiciones desarrolla un *hidrops* fetal *in útero*, del 10 al 12 % antes de las 34 semanas de gestación y la otra mitad después de esta fecha.¹

Originalmente se pensaba que el *hidrops* fetal estaba causado solo por el fallo cardíaco; hoy se conoce que no es del todo así. Debido a la hemólisis severa, se produce una eritropoyesis extramedular extensa, asumiendo este papel el hígado, bazo, riñón y glándulas suprarrenales. Los cordones hepáticos y la circulación hepática están afectados por los islotes de eritropoyesis, y como consecuencia de esto ocurre una obstrucción portal y umbilical que origina hipertensión portal. Todo lo anterior provoca interferencias en la función del hepatocito. La producción de albúmina disminuye, lo cual repercute sobre la presión coloidosmótica plasmática, que desciende y da lugar al desarrollo de edema generalizado, ascitis, derrame pericárdico y pleural (anasarca).^{1,3,4,10}

La teoría del daño hepático en la patogénesis del *hidrops* fetal explica la inconsistente relación entre el *hidrops* y el grado de anemia de algunos fetos. Aunque la mayor parte de los fetos hidróticos presenta una anemia severa, algunos tienen niveles de Hb por encima de 70 g/L, en

contraste otros fetos que no son hidróticos tienen niveles de Hb mucho menores, por ejemplo, 25 g/L.¹

DIAGNÓSTICO

A la luz de los conocimientos actuales, el diagnóstico de esta enfermedad puede efectuarse con precisión, seguridad y precozmente; es posible incluso hacerlo antes del nacimiento, por lo tanto, existen 2 tipos de diagnósticos: el prenatal y el postnatal.²

DIAGNÓSTICO PRENATAL

Es importante que se realice lo más pronto posible, para seguir la evolución del caso. Se debe proceder a:

1. Recogida del historial precedente.^{1,2,4}
 - a) Obstétrico: historias de partos previos con recién nacidos hidróticos,¹ ictericia en las primeras 24 horas después del parto, así como abortos en el primer trimestre del embarazo.
 - b) Hemoterápico: se debe recoger si la gestante ha sido transfundida con anterioridad y si se conocía su condición de Rh negativo, así como si presentó reacción a la transfusión.
2. Evidencias de incompatibilidad sanguínea entre los padres.²

Investigar los sistemas ABO y Rh de los progenitores.

- a) Sistema ABO: cuando la gestante es del grupo O y la pareja A ó B, existen posibilidades de EHPN.
- b) Sistema Rh: las posibilidades son:
 - La mujer Rh negativa y esposo Rh positivo. Es la condición clásica de Levine y la causa más frecuente de EHPN.

- La mujer es Rh positiva y esposo Rh negativo. Es la situación inversa a la anterior. Los antígenos que la provocan son el c (hr´) y el e (hr´´) y para que la incompatibilidad se manifieste es necesario que la mujer sea homocigótica para los antígenos C ó E y su pareja posea c ó e. La relación entre los casos debidos al antígeno D y los debidos al c era 74:1, pero después de la profilaxis anti-Rh, pasó a 10:1.
- Los padres son Rh positivos. Hay que proceder al estudio del genotipo de la pareja. Puede ocurrir que la mujer sea homocigota para un antígeno y la pareja posea el alelo correspondiente. Fuera del sistema Rh, la incompatibilidad se producirá en un sistema distinto, también mostrado a través del estudio del fenotipo. Generalmente están implicados los sistemas Kell, Kidd, Duffy y Diego.
- Los padres son Rh negativos. Las mismas consideraciones hechas para el caso anterior son válidas aquí.

3. Evidencias de aloinmunización.^{1,2,4}

Es fundamental para el diagnóstico. A toda gestante Rh negativa o positiva se le deben investigar los anticuerpos irregulares; inicialmente a través de pruebas de pesquiasaje (prueba de antiglobulina indirecta, PAI) y cuando el resultado sea positivo, se deberá investigar la especificidad y el título.

Cuando el título de anti-D sea inferior a 1/16 hasta el final de la gestación, hay pocas posibilidades de muerte fetal o neonatal. La EHPN será, por lo regular, leve o moderada. Pueden existir diferencias en cuanto al valor crítico del título, por lo que cada laboratorio deberá determinar el valor crítico de esta prueba, ajustándolo a sus condiciones de trabajo.

Cuando la investigación de anticuerpos irregulares significativos sea negativa, es necesario repetirla a las

semanas 12, 20, 28, 32 y a los 15 días antes de la fecha probable del nacimiento.

No se han definido bien los títulos críticos para anticuerpos diferentes del anti-D.¹⁰

4. Evaluación de la gravedad de la EHPN.

Una vez confirmado el diagnóstico de EHPN es necesario analizar la dinámica del proceso hemolítico, para asegurar el buen desarrollo del feto y su viabilidad.

La evolución de la gravedad de la EHPN debe basarse en la suma de los datos siguientes:

a) Historia obstétrica y hemoterapéutica:

La EHPN tiende a manifestarse siempre como una de las formas clínicas, íctero-anémica o hidrópica, que se agrava o no en las gestaciones siguientes. La presencia de un feto o recién nacido hidrópico en la historia de la gestante es un dato importante.

En cuanto a la historia hemoterapéutica se debe recordar que la transfusión de sangre incompatible produce una aloinmunización intensa.

b) Características del anticuerpo:

La mayoría de las formas graves están causadas por anticuerpos anti-D, aunque otros sistemas son capaces de producir la EHPN (acs anti-c, -K, -S, -s, -PP₁P^k).

La titulación del anticuerpo es válida sólo en la primera gestación donde aparece el anticuerpo.² En embarazadas inmunizadas posteriores, si el título de anticuerpos es elevado desde el comienzo, este puede aumentar más aún, disminuir o permanecer inalterado. Por esta razón, en las pacientes previamente inmunizadas, los títulos seriados de anticuerpos no son un método confiable para evaluar el estado del feto. En estos casos debe evaluarse el líquido amniótico.¹¹

La cuantificación del anticuerpo presenta más correlación con la severidad que el título; si es < 4-5 UI/mL, el recién nacido tendrá Hb superior a 100 g/L, la bilirrubina menor de 85 µmol/L y solamente el 4 % de ellos requieren exanguinotransfusión (ET). Si es > de 4-5 UI/mL, el 75 % de ellos necesitarán una ET y tendrán una Hb inferior a 100 g/L.²

c) Estudio del líquido amniótico:

Un buen índice de la hemólisis intrauterina y de bienestar fetal es el nivel de pigmento biliar en el líquido amniótico obtenido por amniocentesis.¹³ El método de espectrofotometría, propuesto por *Liley*,^{1,2,4,10,11} permite determinar la concentración de bilirrubina en el líquido amniótico, y por consiguiente, predice la severidad de la enfermedad sobre la base de la variación de la densidad óptica a 450 nm (DO_{450}). El trabajo original de *Liley* era sobre fetos de más de 27 ó 28 semanas de gestación y no debe ser extrapolado hacia atrás. También pueden estudiarse otras variables fetales como la relación entre lecitina/esfingomielina para medir la madurez pulmonar,¹⁰ de gran importancia para decidir el momento del nacimiento.

d) Ultrasonografía:

Es un método no invasivo de inestimable valor, porque permite evaluar la función cardíaca y el tamaño del área cardíaca, hepática, esplénica, de la placenta y el volumen de líquido amniótico, que se incrementa con la hematopoyesis extramedular y la anemia progresiva. La técnica puede indicar la presencia de *hidrops* fetal.^{1,4,10,11}

El ultrasonido ha reducido al 20 % el riesgo de traumatismo placentario cuando se efectúa la amniocentesis, pues permite un perfil del sitio de implantación,²² de suma importancia si la ubicación de la placenta es anterior.

e) Extracción percutánea de sangre de cordón:

Permite establecer un diagnóstico de seguridad y gravedad, pues evalúa directamente variables hematológicas y bioquímicas del feto. Muchas veces se contamina con sangre materna o fluido amniótico; para diferenciar la sangre materna de la fetal se utilizan marcadores tales como el tamaño de los eritrocitos, la presencia de Hb fetal y la expresión de antígenos.^{3,10,23}

f) Toma de muestras de vellosidades coriónicas:¹³

Se realiza bajo ultrasonografía. Puede obtenerse una muestra de vellosidades coriónicas a las 8-9 semanas de gestación; al romper las vellosidades se obtienen glóbulos rojos fetales y se puede efectuar la tipificación antigénica. La toma de muestra puede efectuarse por vía transabdominal o transcervical, bajo ultrasonografía. Esta prueba presenta riesgo de HFM, con pérdidas fetales en el 0,8 %, y aumento del título de anticuerpos, por lo que debe indicarse profilaxis con gammaglobulina anti-D, si la mujer no está aloimmunizada. La indicación de esta prueba está reservada para mujeres con pareja heterocigota para el antígeno problema, severamente inmunizadas, con antecedentes de EHPN severa y muerte intrauterina.

g) Utilización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para determinar el Rh fetal:^{1,4,13}

La técnica del PCR permite amplificar selectivamente secuencias de ADN o ARN, produce grandes cantidades de ADN de longitud y secuencias definidas a partir de pequeñas cantidades de un complejo templado.

Bennet, Arce, Rossiter y otros estudiaron células fetales de líquido amniótico y determinaron el Rh del feto.²⁴ La

determinación del antígeno D con métodos moleculares puede realizarse en vellosidades coriónicas o en líquido amniótico. Hay reportes (*Le Van Kim* y otros, 1993)²⁵ de intentos de desarrollar la tipificación D por análisis del DNA de células fetales de la sangre periférica de madres Rh negativas, pero este sistema no está aún disponible como método de rutina. Esta técnica no invasiva podría convertirse en el método de elección para la tipificación del Rh fetal cuando se desarrollen mejores métodos de enriquecimiento de células fetales.

h) La prueba de respuesta a la oxitocina (PRO) y determinación de los valores de estríol materno:

Pueden ser útiles. Aunque los niveles de estríol materno elevados indican la suficiencia de las vías metabólicas dependientes de una unidad fetoplacentaria funcionando, los valores en sí no son buenos indicadores de la severidad de la EHPN.¹¹

i) Estudios de inmunidad celular:¹³

Los ensayos funcionales que miden la interacción entre eritrocitos sensibilizados y las células mononucleares humanas parecen ser útiles en predecir la evolución de la enfermedad hemolítica. Los más ampliamente conocidos son:

- Prueba de monocapa de monocitos (MM).
- Prueba de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC).

La prueba de MM se demostró que predice la significación clínica de los anticuerpos en casos potenciales de enfermedad hemolítica. Serviría como prueba *in vitro* de la afinidad del anticuerpo materno por los eritrocitos fetales. Cuando la reactividad de esta prueba es mayor o igual al 20 %, se asocia con EHPN que requiere transfusión.¹³

La prueba de ADCC puede arrojar falsos positivos, cuando existen en la madre anticuerpos bloqueadores para el receptor Fc presentes en segundos embarazos y siguientes. Los glóbulos rojos sensibilizados *in vivo* con IgG se adhieren a los fagocitos mononucleares por medio de receptores Fc. La interacción entre el receptor y la célula blanco viene determinada por la subclase de IgG. Sólo las IgG1 e IgG3 son capaces de permitir la adhesión del glóbulo rojo a la célula efectora y de estas las IgG3 tienen la mayor actividad de adherencia. Las subclases IgG2 e IgG4 no lo hacen o es muy escasa.⁷ Se ha observado que la prueba de MM tiene similar utilidad que la prueba de ADCC;¹³ actualmente un gran número de investigadores le confieren mayor credibilidad a la prueba de MM.

DIAGNÓSTICO POSNATAL

Se puede efectuar:

- Clínicamente: a partir del aspecto físico del recién nacido. Se puede encontrar palidez, taquicardia y taquipnea debido a la anemia. La taquipnea puede deberse también a derrames pleurales o hipoplasia pulmonar; la hepatoesplenomegalia secundaria al fallo cardíaco o debido a la hemólisis extravascular y a la hematopoyesis extramedular; petequias y púrpuras pueden estar presentes por la trombocitopenia, íctero y además pueden constatarse signos neurológicos de la encefalopatía bilirrubínica (letargo, hipotonía). Otros signos incluyen vómitos, llanto de tono alto, fiebre, hipertonia y opistótonos.¹⁸
- Inmunohepatológicamente: es muy completo porque confirma el diagnóstico, evalúa la gravedad y establece la conducta a seguir.²

Existen pruebas de confirmación y pruebas de valoración de la gravedad de la EHPN para la madre y el recién nacido.

Pruebas de confirmación: se emplean en la madre y en el niño. En la madre se realiza el tipaje ABO y Rh,² que incluye prueba de determinación de variantes débiles del antígeno D(D^U) pues pacientes D^U pueden ser considerados Rh positivos y tratados como tal; PAI² para determinar aloanticuerpos maternos y su especificidad; prueba de rosetas,^{3,10} para determinar si hubo o no paso de hematíes fetales a la circulación materna; prueba de Kleihauer-Betke,^{3,10,25} para cuantificar la cantidad de sangre fetal en la circulación materna y la citometría de flujo^{12,26-28} para precisar si ocurrió o no HFM y cuantificarla. En el niño se realiza el tipaje ABO y Rh;² la PAD para demostrar anticuerpos sobre el eritrocito; Hb y hematócrito de cordón,^{3,18} bilirrubina indirecta de cordón,³ conteo de reticulocitos,¹⁸ en la EHPN puede ser superior al 6 % y tan alto como del 30 al 40 %; gasometría de sangre arterial,¹⁸ que puede mostrar acidosis metabólica y elución de anticuerpos de los hematíes del recién nacido.¹⁶

Pruebas para la valoración de la gravedad:¹⁸

- Determinación de albúmina sérica y la relación albúmina/bilirrubina.
- Determinación de carboxihemoglobina (COHb). Los niveles de COHb están aumentados en neonatos con hemólisis.

MANEJO DE LA ALOINMUNIZACIÓN

A. SUPRESIÓN DE LA ALOINMUNIZACIÓN

Muchos han sido los intentos para suprimir la aloinmunización. Dos medidas que son beneficiosas en la reducción de

los niveles de anticuerpos maternos y que disminuyen la severidad de la EHPN son:

- Plasmaféresis intensiva.¹⁴
- La administración de gammaglobulina intravenosa (IGIV).^{1,4,29}

Con la *plasmaféresis* los niveles de aloanticuerpos pueden ser removidos hasta un 75 % , pero de 6 a 8 semanas los niveles de anticuerpos tienden a rebotar, aún con plasmaféresis continuada. El plasma extraído puede reponerse con albúmina o IGIV para reducir el efecto rebote y mantener adecuados niveles de albúmina e IgG. La plasmaféresis es un proceder incómodo y costoso, no exento de riesgo para la madre, por lo que debe reservarse para madres con un compañero homocigótico para el antígeno al cual ellas están inmunizadas y madres con una historia previa de *hidrops*. Este proceder debe comenzar a las 10 ó 12 semanas de gestación, cuando comienza la transferencia de anticuerpos maternos.^{1,4,13} Cada semana deberán extraerse de 10 a 20 L de plasma.¹⁴

El uso de altas dosis de *inmunoglobulina intravenosa* y sus beneficiosos han sido reportados.^{13,29}

Los mecanismos de acción postulados son:¹³

- a) La inmunoglobulina podría causar la inmunomodulación de las células T y B maternas en número o en función y efectuar una supresión de la síntesis de anticuerpos.
- b) Podría saturar los receptores Fc de la placenta.
- c) La inmunoglobulina podría atravesar la placenta y bloquear el sistema monocito-macrófago fetal.
- d) Podría haber un mecanismo de *feedback* negativo a través de un mecanismo antiidiotipo sobre la línea celular B que produce el anticuerpo.³⁰

Los niveles de aloanticuerpos maternos circulantes pueden ser reducidos a la mitad, por el efecto de *feedback* negativo de la gammaglobulina intravenosa y producir niveles de IgG de 25 a 30 g/L, con una dosis de 2g/kg de peso. Además la IGIV causa interferencia con el paso de anticuerpos maternos a través de la placenta, ya que satura los receptores Fc del trofoblasto y del sistema monocito-macrófago del feto, por lo que disminuye la hemólisis de las células fetales recubiertas de anticuerpos. El tratamiento con IGIV debe comenzar al mismo tiempo que la plasmaféresis. La dosis recomendada es de 400 mg/kg de peso materno durante 5 días, repetir a intervalos de 3 semanas o 1 g/kg de peso materno/día y repetir semanalmente.

El inconveniente más importante para el uso rutinario de la IGIV es su elevado costo.¹³

B. TRATAMIENTO FETAL

El tratamiento de la EHPN ha pasado por varias etapas. Primeramente la inducción temprana del parto comenzó a plantearse como alternativa del tratamiento de los fetos con alto riesgo de desarrollar *hidrops fetalis* después de las 32-34 semanas de gestación. Con la introducción de nuevos métodos para el tratamiento de esta enfermedad esto ha cambiado.¹⁴ Ya desde 1941, *Levine* y otros mostraron que los recién nacidos se beneficiaban con la administración de sangre Rh negativa; a partir de esta fecha la transfusión de sangre se convirtió en el principal tratamiento de esta enfermedad. Las técnicas para la transfusión se fueron perfeccionando. *Diamond* propuso la transfusión por vía umbilical, en 1947; *Liley* la transfusión intrauterina (TIU) por vía peritoneal; que fue mejorada a partir de 1976 por *Hobbins* y otros en su

ejecución, con la introducción de la ultrasonografía dinámica; y finalmente *Rodeck* y otros en 1981 propusieron la vía intravascular para la TIU.^{2,13}

Transfusión fetal intrauterina

Es el método a elegir si se hace necesario tratar al feto antes de la semana 32 de la gestación. Tiene como objetivo combatir la anemia. Están indicadas si el hematócrito fetal es menor o igual al 30 % y el feto es demasiado inmaduro para el nacimiento.¹³ La sangre a usar debe ser de menos de 96 horas de extraída (menos de 4 días), exenta del plasma y de capa leucoplaquetaria, libre de citomegalovirus (CMV) e irradiada (2 500-3 000 rads) para evitar el riesgo potencial de enfermedad de injerto contra huésped. Los hematíes a administrar deben ser preferentemente ABO compatibles, antígeno negativos para el anticuerpo problema, carentes de HbS¹⁰ y compatibles con el suero de la madre. Antes de la transfusión, de 10 a 12 mL de solución salina estéril deben añadirse al paquete de células rojas para disminuir su viscosidad y facilitar la transfusión. El hematócrito resultante de la unidad a transfundir debe estar entre 0,85 y 0,90.^{2,5} Las TIU pueden ser intraperitoneales o intravasculares.

– Transfusión fetal intraperitoneal (TIP): se introduce en 1963 por *Liley* y cambia el pronóstico de los fetos afectados severamente.^{2,4,13} En un tiempo constituyó un método de tratamiento de los niños con talasemia, y fue desplazada por la transfusión intravascular debido a sus desventajas. Se conoce que las células rojas de la sangre son absorbidas en cavidad peritoneal a través de las lagunas linfáticas subdiafragmáticas y funcionan normalmente. En ausencia de *hidrops*, del 10 al 12 % de las células rojas infundidas

son absorbidas diariamente.¹³ La presencia de ascitis no impide la absorción, aunque es más variable.⁴ El aumento de las cifras de Hb tarda de 8 a 10 días. El volumen a transfundir se determina a través de la siguiente fórmula:²

Volumen a transfundir = (No. de semanas de gestación - 20) x 10 mL

- Transfusión fetal intravascular (TIV): los primeros en usarla fueron *Rodeck* y otros (1981-1984) utilizando un fetoscopio. Más tarde con el desarrollo de la ultrasonografía, esta modalidad de tratamiento fue introducida en varias unidades perinatales.^{2,13} Se utiliza preferiblemente la vena umbilical, aunque puede ser en arteria umbilical y placenta.

Este tipo de transfusión tiene las ventajas siguientes:

- a) Puede confirmarse el grupo fetal.
- b) Puede medirse el hematocrito pre y postransfusional.
- c) Los niveles de Hb aumentan inmediatamente.
- d) Puede efectuarse con éxito antes de las 20 semanas. En Alemania, *Dieter* y otros en un estudio durante 6 años, efectuaron la primera transfusión intrauterina a las 18 semanas.³¹
- e) Puede lograrse la reversión del *hidrops* fetal *in utero*, y lograr el nacimiento de un niño sin *hidrops*, lo que reduce las complicaciones neonatales; además de que los fetos hidróticos han alcanzado una sobrevida del 89 %.¹³
- f) Los fetos pueden mantenerse *in utero* hasta las 37-38 semanas de gestación.

La sobrevida a este tipo de transfusión es superior a la de la TIP. En un estudio realizado en Canadá, se demostró que de

75 fetos que recibieron TIP, 57 sobrevivieron (76 %) y que de 154 fetos que recibieron TIV, 136 sobrevivieron (88 %). En este mismo estudio, de 30 fetos hidróticos que recibieron TIP, 18 sobrevivieron (60 %) y de 48 fetos hidróticos que recibieron TIV, 35 sobrevivieron (73 %).⁴

La dosis a transfundir es de 40 a 50 mL/kg de peso fetal estimado. Si existe evidencia de bradicardia significativa o marcada dilatación ventricular, la transfusión debe ser descontinuada.⁴

También el volumen a transfundir puede ser calculado como sigue:²

$$\text{Volumen a transfundir} = V \frac{(\text{Hto3} - \text{Hto1})}{\text{Hto2}}$$

Donde:

V: volemia fetal.

Hto 1: hematocrito pretransfusional del feto.

Hto 2: hematocrito de la sangre a transfundir.

Hto 3: hematocrito deseado al final de la transfusión.

Rodeck y otros aconsejan inyectar 2/3 de la dosis calculada y a continuación tomar una muestra para evaluar el resultado; si el hematocrito no es satisfactorio, hay que completar la administración hasta que quede el hematocrito fetal entre 0,35 y 0,45.²

- Intervalo entre las transfusiones:

- Para los fetos no hidróticos es fija, relativamente de 9 a 12 días entre la primera y la segunda transfusión, de 15 o más entre la segunda y las restantes.
- Para los fetos hidróticos, la TIU se puede anticipar si hay señales de agravamiento.

- Complicaciones de la TIU

- Las maternas son rarísimas. Se han descrito partos prematuros y aloimmunizaciones a otros antígenos (anti-Fk^b, anti-Jy^b, anti-S).⁴

- En el feto se han descrito hematoma y hemorragia en el sitio de la punción, bradicardia fetal, corioamnionitis, quistes paraencefálicos, reacciones de injerto contra huésped, quimerismo, susceptibilidad a las infecciones y posteriormente desarrollo psicomotor comprometido.^{4,13}

C. TRATAMIENTO DEL NEONATO CON EHPN

Deben realizarse determinaciones de sangre de cordón umbilical: ABO, Rh, PAD, Hb, hematócrito, bilirrubina directa y total.

Exanguinotransfusión

Es introducida por *Wallerstein* en 1945.⁴ Se emplea en el tratamiento de la EHPN, severa pues corrige la anemia, elimina los hematíes unidos a las inmunoglobulinas, así como las inmunoglobulinas libres y reduce la carga de bilirrubina al remover los productos liberados por la hemólisis eritrocitaria.^{4,10,18}

Generalmente se recambian entre 1 y 2 volúmenes sanguíneos del recién nacido (130-170 mL/kg de peso). Cuando se recambian 2 volúmenes de sangre se remueve cerca del 90 % de los hematíes afectados, cuando se recambia un volumen se remueve cerca del 70 %. La remoción de la bilirrubina es insuficiente, porque la bilirrubina unida a la albúmina se encuentra tanto en el espacio intravascular como extravascular. Dos volúmenes de sangre remueven cerca de 25-30 % de la bilirrubina corporal total.

La administración de albúmina (1 g/kg) antes de la ET o la adición de albúmina (4-6 g) a la sangre usada para la ET, podría incrementar la cantidad de bilirrubina removida en el 35 % del total de la bilirrubina

corporal, por eliminación de bilirrubina del espacio intravascular.⁴ Otros autores como *Lee* y otros plantean que con el recambio de 2 volúmenes sanguíneos, la bilirrubina sérica disminuye hasta un 45-50 % de su valor previo.¹⁰ Muchos autores han cuestionado el beneficio de la terapia con albúmina, por lo que no debe establecerse como norma de tratamiento de los recién nacidos con anemia, pues el incremento de la presión oncótica y del volumen sanguíneo en el recién nacido anémico puede precipitar el fallo cardíaco.^{4,18}

El mayor problema de la ET en la EHPN es la selección de la sangre adecuada. Como la madre y el niño pueden pertenecer a grupos ABO distintos, normalmente se utilizan hematíes del grupo O. Si el anticuerpo problema es anti-D, los hematíes tienen que ser Rh negativos.

No obstante, no todas las ET requieren sangre O negativa. Si la madre y el niño tienen el mismo grupo ABO, pueden utilizarse hematíes isogrupo y si el anticuerpo problema no es anti-D, los hematíes administrados deben ser carentes del antígeno problema. Para realizar las pruebas de compatibilidad antes de la ET, se pueden utilizar suero o plasma tanto de la madre como del hijo. El suero materno tiene la ventaja de su mayor disponibilidad en cuanto a volumen, mayor concentración de anticuerpos y la posibilidad de analizarse totalmente antes del nacimiento, aunque debe tenerse presente que puede contener anticuerpos frente a antígenos distintos presentes en los hematíes del niño, o anticuerpos IgM que no atraviesan la placenta. Ni el suero del niño, ni el eluido, son ideales para pruebas de compatibilidad, ya que el suero puede tener un número insuficiente de moléculas de aloanticuerpos y el eluido puede no contener otros aloanticuerpos presentes en la sangre de la madre para antígenos no presentes en los hematíes del recién nacido y sí presentes en la sangre a transfundir.¹⁰

Se recomienda generalmente para los recién nacidos una ET igual a 2 veces el volumen sanguíneo del paciente. Las características de la sangre a usar para la ET son las mismas que para la TIU, excepto que no es necesario irradiar los hematíes a no ser que el recién nacido haya recibido transfusión intrauterina o sea un pretérmino (PT) de menos de 1 200 g de peso.³² Para realizar este proceder, los concentrados de glóbulos rojos pueden combinarse con plasma fresco congelado, compatible con los hematíes del neonato y de los glóbulos rojos a transfundir, albúmina al 5 % o administrarse sangre total (de menos de 4 días).

Si se combinan hematíes con plasma fresco congelado, la fórmula siguiente dará al niño un hematócrito de 0,50 al final de una ET de doble volumen:

Volumen sanguíneo total del RN (VST) = 85 mL x kg

Volumen de exanguinotransfusión (VET) = 2 VST

Volumen de glóbulos a utilizar en la ET (VG) = $\frac{VET}{0,7}$

Donde 0,7 es el hematócrito aproximado de los hematíes a infundir.

Volumen de plasma fresco congelado = VET-VG

La ET produce una disminución de los niveles de neutrófilos, la cual es corregida lentamente, pero no parece tener significación clínica; similarmente ocurre con las plaquetas, por lo que se debe investigar antes de la ET si el recién nacido está trombocitopénico⁴ y después de esta se realizarán conteos periódicos de las plaquetas; constituye una indicación la transfusión de una unidad de concentrado de plaquetas, si la cifra de plaquetas está por debajo de $30-40 \times 10^9/L$.³²

Fototerapia

Los mecanismos por los cuales la fototerapia disminuye los niveles séricos de bilirrubina incluyen fotooxidación y

fotoisomerización de la bilirrubina.¹⁸ La bilirrubina en solución es oxidada por la luz visual en la línea azul del espectro (luz solar o lámpara fluorescente).^{1,4}

La luz azul produce 2 isómeros de bilirrubina indirecta: la *fotobilirrubina*, la cual se produce en grandes cantidades, es soluble en agua, no tóxica y se excreta por la bilis, y la *lumirrubina*, la cual se produce en pequeñas cantidades y es excretada rápidamente por la orina y la bilis.^{4,18} La lumirrubina es el factor más importante en la reducción de los niveles de bilirrubina sérica por fototerapia. Cuando se aplica fototerapia al recién nacido, cerca del 15 % de la bilirrubina de la circulación consiste en fotoisómeros no tóxicos.

La fototerapia ha reducido apreciablemente la necesidad de ET. Sus indicaciones dependen de la edad y madurez del recién nacido. Generalmente debe aplicarse cuando los niveles de bilirrubina sérica están entre 250 y 300 $\mu\text{mol/L}$. Debe tenerse presente que en el tratamiento con fototerapia puede haber un factor de deshidratación, por lo que es fundamental cuidar el estado de deshidratación de estos niños.^{7,18}

Según *Fanaroff* y otros, la hiperbilirrubinemia debe manejarse teniendo en cuenta los niveles de bilirrubina sérica, las horas de vida, la madurez del recién nacido (a término, AT y PT) y su condición de sano o enfermo (tablas 2, 3 y 4).³³

La fototerapia no es efectiva cuando la hemólisis es severa y los niveles de bilirrubina se incrementan rápidamente.⁴

PREVENCIÓN DE LA ALOINMUNIZACIÓN POR RH

Aunque existen algunos hechos en la historia de la prevención de la isoimmunización por anti-D, incluso anteriores a

TABLA 2. Guía para el tratamiento de la hiperbilirrubinemia según edad del neonato y niveles séricos de bilirrubina sanguínea total (BST) (mg/dL - μmol/L)

Edad (horas)	Fototerapia a considerar	Fototerapia	ET si falla fototerapia	ET más fototerapia
25-48	≥ 12 (170)	≥ 15 (260)	≥ 20	≥ 25
49-72	≥ 15 (260)	≥ 18 (310)	≥ 25 (430)	≥ 30 (510)
72	≥ 17 (290)	≥ 20 (340)	≥ 25	≥ 30

Fallo de fototerapia: incapacidad de disminuir BST 1-2 mg/dL a las 4-6 horas de iniciado el tratamiento, o fallo subsecuente de producir disminución progresiva de la BST a niveles inferiores de los considerados para ET.

TABLA 3. Tratamiento de la hiperbilirrubinemia en recién nacidos pretérminos (RN-PT) según la condición de sano o enfermo

RN-PT	Sano		Enfermo	
	Fototerapia	ET	Fototerapia	ET
< 1 000 g	5-7	Varía	4-6	Varía
1 001-1 500 g	7-10	Varía	6-8	Varía
1 501-2 000 g	10-12	Varía	8-10	Varía
2 001-2 500 g	12-15	Varía	10-12	Varía

ET: exanguinotransfusión.

TABLA 4. Tratamiento de la hiperbilirrubinemia en recién nacidos a término (RN-AT) según la condición de sano o enfermo

RN-AT	Sano		Enfermo	
	Fototerapia	ET	Fototerapia	ET
> 2 500 g	15-18	20-25	12-15	18-20

ET: exanguinotransfusión.

No se sustrae la bilirrubina directa, a no ser que sea mayor que el 50 % de la bilirrubina sanguínea total.

los experimentos de *Stern* en 1961, la prevención efectiva de la isoimmunización por anti-D no se empezó a realizar en casi todos los países del mundo hasta los años 1968-1969.³⁴

Según *Bowman*, el riesgo de inmunización por Rh está entre un 1,5 y 2 % si el feto es Rh positivo y ABO incompatible con la madre; del 2 % si una mujer Rh negativa tiene un aborto espontáneo y entre el 4 y 5 % si tiene una interrupción provocada.¹

En 1900, *Von Dungern* probó el axioma que formó las bases para la profilaxis por Rh, 65 años más tarde. Él inyectó a conejos células rojas procedentes de buey. Los conejos produjeron anticuerpos contra células rojas de buey. Cuando inyectó un

segundo grupo de conejos con células rojas procedentes del mismo buey, y este grupo poseía suero del primer grupo, este no desarrolló anticuerpos contra células de buey. Con esto demostró que la inmunización activa de un antígeno es prevenida por la presencia de anticuerpos pasivos contra ese antígeno.⁴

Los avances en la prevención de la inmunización por Rh han permitido que en muchos países la incidencia de esta enfermedad haya disminuido dramáticamente. En Manitoba (Canadá),⁴ la prevalencia de inmunización por Rh se ha reducido en un 92 % y el número de ET de 226 en 1962 a 0 en 1994. Esto se debe no sólo a la inmunoprofilaxis, sino también al

mejor manejo de los fetos severamente afectados, pues al recibir TIU, no requieren ET al nacimiento y solo necesitan de una o más transfusiones simples en las primeras semanas de vida.

No obstante, aproximadamente el 1 % de las mujeres Rh negativas desarrollan anticuerpos anti-D durante el embarazo, debido a HFM pequeñas y silentes, especialmente en el último trimestre. Estudios en Canadá (*Bowman*, 1988), en Inglaterra (*Tovey* y otros, 1983) y en Francia (*Huchet* y otros, 1987), mostraron que la profilaxis prenatal puede reducir la aloinmunización materna al 0,2 % o menos.¹⁵

Se aconseja que en los casos de aborto y de utilización de técnicas invasivas, las mujeres Rh negativas sean protegidas,³⁴ aunque las opiniones con respecto a este punto están divididas.¹⁵ Cuando se produzcan en el primer trimestre, la dosis de IgG anti-Rh puede reducirse a 50 µg; en el caso de eventos inmunizantes después de las 20 semanas de gestación la dosis a administrar debe ser de 100 µg. Si se demuestra HFM de gran volumen (mayor de 15 mL) una dosis adicional de gammaglobulina anti-D debe administrarse.¹⁵

Está establecido que después del parto de un hijo Rh positivo, la mujer Rh negativa no aloinmunizada debe recibir una dosis de 300 µg de IgG anti-D dentro de las 72 horas posteriores al parto, pero ello no excluye que en casos de no administración dentro de este período no se deba hacer hasta 1 semana después del parto.³⁵ Esta dosis protege de HFM inferiores a 15 mL. Cuando se sospecha una HFM de mayor volumen, es necesario cuantificarla para administrar la dosis correcta que asegure su protección y en los lugares donde no sea posible su cuantificación, se administrará profilácticamente.

Hasta el momento actual, toda la gammaglobulina anti-D se prepara a partir

de donantes mujeres que se inmunizan previamente por el embarazo y de donantes varones inmunizados intencionalmente.

Con el tiempo, la cantidad de mujeres inmunizadas por el embarazo ha disminuido grandemente y en la actualidad se dispone casi exclusivamente del plasma de donantes varones inmunizados intencionalmente. Esto unido a los riesgos potenciales de transmisión de enfermedades virales y el riesgo teórico de contraer la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob,¹⁵ ha hecho que los investigadores se hayan dado a la tarea de obtener una gammaglobulina anti-D de origen monoclonal. En la actualidad existen en el mundo al menos 5 anticuerpos monoclonales (AcM) en período de protocolo.³⁶ Obtener un AcM seguro y efectivo podría ser el camino para el futuro de la profilaxis anti-D, pero por el momento, se sitúa en el siglo XXI, por lo que se debe seguir intentando la obtención de anti-D policlonal y vigilar las indicaciones y usos del mismo.

EHPN-ABO

Se produce EHPN-ABO cuando la madre es de grupo O y el hijo es de grupo A, B o AB.^{1,2,4,5,10} La EHPN-ABO reviste características muy particulares que la diferencian de otras formas de EHPN, y ello es debido a que los anticuerpos anti-A, anti-B y anti-AB, están presentes en el suero de casi todas las personas que no poseen en sus glóbulos rojos el antígeno correspondiente. La presencia de estos anticuerpos, tanto IgM como IgG, no es dependiente de previas exposiciones al antígeno.⁷ Las personas de grupo O, en comparación con las de grupo A ó B, son más aptas para formar IgG anti-A, anti-B y anti-AB. Esto explica por qué el primer hijo (A ó B) puede ser a menudo afectado (hasta en el 50 %).^{1,2,4,5,7,10}

Los primeros casos de EHPN-ABO fueron descritos por *Halbretch* en 1944. En la literatura se señala que esta entidad tiene una alta incidencia.⁷ En nuestros países y especialmente en Venezuela, una posible explicación es la de infecciones frecuentes en la población con bacterias que presentan antígenos con reactividad cruzada con los grupos químicos de especificidad A ó B. A esta conclusión llegaron *Layrisse y Layrisse* al encontrar altos títulos de anti-A y anti-B en sueros de indios venezolanos de grupo sanguíneo O. Estos individuos nunca estuvieron expuestos a inyecciones de material biológico o de inmunizaciones durante embarazos. Además ha sido ampliamente demostrado la presencia de sustancias A ó B en el medio ambiente, abarcando un amplio espectro antigénico que comprende bacterias, alimentos, vacunas y parásitos.^{7,34}

HALLAZGOS SEROLÓGICOS EN LA MADRE

El método más sensible y satisfactorio para su estudio es tratar el suero de la madre con sustancias reductoras como el ditiotreitól (DTT) y el 2-mercaptoetanol (2-ME), que inactivan los anticuerpos IgM y luego se determina el título de IgG anti-A, anti-B mediante la PAI con el reactivo de Coombs monoespecífico anti-IgG. Empleando este método, un título de 512 o más alto fue definido como muy sugestivo de EHPN-ABO.^{10,16} *Contreras* plantea que empleando esta técnica un título de 64 o más es indicativo de EHPN-ABO.³⁷ Como pueden existir diferencias en cuanto al valor crítico del título por encima del cual este es sugestivo de EHPN-ABO, cada laboratorio debe determinar el valor crítico de esta prueba, y ajustarlo a sus condiciones de trabajo.

Brouwers y otros demostraron la presencia de las 4 subclases de IgG en el suero de 39 madres.³⁸ El mecanismo hemolítico en este tipo de enfermedad está encuadrado en el de lisis citotóxica inducida por células fagocíticas, realizada particularmente en el bazo. *Brouwers* demostró que el complemento no es activado por los anticuerpos IgG anti-A o anti-B en la EHPN-ABO.³⁹

HALLAZGOS SEROLÓGICOS EN EL NIÑO

Son bien conocidos los resultados discrepantes de la PAD como diagnóstico de EHPN-ABO, ya que esta puede ser positiva, débil o moderada y aún negativa en niños que presentan enfermedad hemolítica severa. En 1973, *Romano* y otros demostraron que este fenómeno es debido a que existen pocas moléculas de IgG anti-A o anti-B sensibilizando los eritrocitos del recién nacido (menos de 220 moléculas de IgG por hematíe).⁷

Se ha señalado que usando un método más sensible que el tubo para la PAD, como por ejemplo el autoanizador, esta sería positiva en todos los casos de incompatibilidad ABO, pues esta metodología emplea potenciadores de baja fuerza iónica que pueden detectar niveles entre 8 y 85 moléculas de IgG en la membrana eritrocitaria.⁷

La elución de anticuerpos de las células rojas del recién nacido para enfrentarlas a células A ó B es otra técnica que se aplica en el estudio de esta entidad, cuando la PAD es negativa.¹⁶ También se realiza la prueba de autoaglutinación de glóbulos rojos, la cual es positiva.⁷

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS

Existe un incremento de los reticulocitos^{7,16} y los valores pueden variar entre

10 y hasta el 30 %, como evidencia de un proceso hemolítico compensado.

En relación con el recuento de eritroblastos, se citan cifras variables, entre 8 y 15 %.⁷

La presencia de microsferocitosis (80 %) es igualmente un hallazgo prominente en los extendidos de sangre periférica, se observan cambios en la curva de fragilidad osmótica, los cuales pueden persistir hasta 2 ó 3 semanas después del nacimiento.⁷

MANEJO DE LA EHPN-ABO

La incompatibilidad ABO no reviste la severidad y progresión de la observada en la incompatibilidad por Rh, por lo que no hay indicación para la realización de pruebas predictivas en la madre, a menos que exista una historia previa de EHPN-ABO.

Después del parto, como el recién nacido no presenta una anemia severa por lo general, el aumento de los niveles de bilirrubina puede tratarse con fototerapia, si el recién nacido presenta anemia severa y amerita una ET, esta debe realizarse utilizando glóbulos de grupo O, suspendidos en plasma de grupo AB, preferiblemente de un donante ABH.^{7,16}

EHPN PRODUCIDA POR OTROS ANTICUERPOS

El listado de anticuerpos contra antígenos eritrocitarios capaces de provocar una EHPN fue expuesto anteriormente. En este acápite nos referiremos a algunos de estos anticuerpos.

ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEBIDA A ANTI-KELL

Es causa de una enfermedad hemolítica severa. *Pepperell* y otros en 1977 reporta-

ron que de 5 niños, 1 nació muerto y 2 desarrollaron un *hidrops fetalis*. Si se compara con casos de EHPN por anti-D, el porcentaje de reticulocitos es mucho más bajo que las cifras de Hb. Además se han encontrado casos que desarrollan *hidrops fetalis* a pesar de que los niveles de bilirrubina en líquido amniótico indican enfermedad hemolítica leve o moderada. La posible explicación de este fenómeno se trató anteriormente; todo parece indicar que al actuar sobre precursores de células rojas, causa más anemia que íctero.

Otros anticuerpos del sistema *Kell* han sido implicados en enfermedad hemolítica leve o moderada (-Js^a, -Js^b y -K^u).

ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEBIDA A ANTI-DUFFY Y ANTI-KIDD

Los anti-Fy^a causan una EHPN ligera. *Greenwalt* y otros en 1959 demostraron que de 11 casos, 2 murieron. *Albrey* y otros en 1971 demostraron una EHPN ligera debido a anti-Fy³.

Los anti-Jk^a pueden causar una EHPN severa.

ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEBIDA A ANTICUERPOS CONTRA EL SISTEMA MNS

- Anti-M: en raros casos la enfermedad hemolítica se desarrolla y es responsable de *hidrops fetalis*. En los casos que el feto es afectado la PAD es débilmente positiva, aunque en células rojas no lavadas aglutinan espontáneamente en un medio coloide y la fragilidad osmótica puede estar aumentada.
- Anti-N: han sido descritos casos ligeros.
- Anti-S y -s: puede ser severa o fatal.
- Anti-U: puede ser severa o fatal.

Otros anticuerpos de este sistema como los anti-Far, -Mt^a, -Mit y -Mv también se han detectado como causantes de EHPN.

Desde que se tuvo conocimiento de la EHPN, esta ha sido objeto de preocupación de obstetras, neonatólogos y hemoterapeutas. Actualmente se dispone de un arsenal de métodos diagnósticos y

terapéuticos que permiten la prevención, el diagnóstico precoz y su tratamiento efectivo, por eso siempre que se sospeche la posibilidad de esta enfermedad es preciso determinar los anticuerpos involucrados y su importancia clínica, para de esta forma contribuir a disminuir su incidencia y morbi-mortalidad.

SUMMARY

The perinatal hemolytic disease (PHD) is an alloimmune immunological affection against those antigens of paternal origin that are present in the erythrocytes of the fetus and the newborn infant. Several alloantibodies directed against erythrocytic antigens have been reported as the cause of PHD. The most frequently reported are those of the ABO and Rh systems. The PHD caused by the Rh system is usually severe, particularly that produced by the antigen D. It is very common to find the anti-D associated with other Rh antibodies (C,E, of lower titer). The anti-c antibody may produce severe PHD by itself. The advances in the prevention of immunization by D antigen have reduced the incidence of this disease. The PHD caused by ABO has always been more frequent, but its relationship with fetal or neonatal death is lower than that of PHD-Rh. In this type of PHD the antibodies are preformed. The IgG subclasses predominating in this disease are IgG1 and IgG3. In the light of the present knowledge, the diagnosis of this disease may be made early. It is possible to make it even before birth and to indicate the intrauterine fetal transfusion as a method for saving the fetuses with hematocrites lower or equal to 30%. The phototherapy and the exchange transfusion are used among the newborn infants to reduce the serum levels of bilirubin produced by hemolysis and to prevent kernicterus. As long as the disease is suspected it is necessary to act quickly and to determine the involved antibodies in order to reduce its incidence and morbimortality.

Subject headings: ERYTHROBLASTOSIS, FETAL/diagnosis; BLOOD TRANSFUSION, INTRAUTERINE; RH ISO-IMMUNIZATION.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bowman JM. Immune hemolytic disease. En: Nathan DG, Orkin SH, ed. Hematology of infancy and childhood. 5th ed. Philadelphia: Saunders, 1998:53-78.
2. Clóvis P. Enfermedad hemolítica perinatal. En: López Borrasca A. Enciclopedia iberoamericana de hematología. Salamanca: Ediciones Universidad de Salamanca, 1992:424-38.
3. De Palma L, Luban NLC. Alloimmune hemolytic disease of the newborn. En: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, ed. Williams Hematology. 5th ed. New York: Mc Graw Hill, 1995:697-704.
4. Foerster J. Alloimmune hemolytic anemias. En: Lee GR, Bithell TC, Foerster J, eds. Wintrobe's clinical hematology. 10a ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1998:1210-32.
5. Zipursky A, Bowman JM. Isoimmune hemolytic diseases. En: Nathan DG, Oski FA, eds. Hematology of infancy and childhood. 4th ed. Philadelphia: Saunders, 1993:44-73.
6. Klemperer MR. Anemia hemolítica: defectos inmunes. En: Miller DR, Pearson HA, Baehner RL, McMillan CW, eds. Hematología pediátrica. 3ra ed. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1986:291-320.
7. Linares J. Enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO (EH-ABO). Rev Argent Transf 1996;12(1):11-21.

8. Contreras M. Antenatal tests in the diagnosis and assessment of severity of haemolytic disease (HD) of the fetus and newborn (HDN). *Vox Sang* 1994;67:207-9.
9. Lubenko A, Contreras H, Rodeck CH, Nicolini U, Savage J, Chana H. Transplacental IgG subclass concentrations in pregnancies at risk of haemolytic disease of the newborn. *Vox Sang* 1994;67:291-8.
10. American Association of Blood Bank, Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunología. Manual Técnico. 12a ed. Buenos Aires: Edigraf, 1997:443-60.
11. Queenan JT. Eritroblastosis fetal. En: Fanaroff AA, Martin RJ, Merkatz IR, eds. *Behrman. Enfermedades del feto y del recién nacido*. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1986:58-68.
12. Bromilow IM, Duguid JKM. Measurement of feto-maternal haemorrhage: a comparative study of three Kleihauer techniques and two flow cytometry methods. *Clin Lab Haematol* 1997;19:137-42.
13. Catalán MA. Conceptos actuales en diagnóstico y tratamiento de la enfermedad hemolítica del recién nacido. *Rev Argent Transf* 1996;22:23-37.
14. Lo Y, Bowel PJ, Selinger M. Prenatal determination of fetal RhD status by analysis of peripheral blood of rhesus negative mothers. *Lancet* 1993;341:1147-8.
15. Lee D, Contreras M, Robson SC, Rodeck CH, Whittle MJ. Recommendations for the use of anti-D immunoglobulin for Rh prophylaxis. *Transf Med* 1999;9:93-7.
16. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. *Blood transfusion in clinical medicine*. 8 ed. Oxford: Blackwell Scientific, 1987.
17. Complejo de antígenos leucocitarios y de histocompatibilidad mayor humanos. En: Stites DP y Abba IT, eds. *Inmunología básica y clínica*. 7ma ed. México, DF: El Manual Moderno, 1993:47-64.
18. Peterc SM. Management of neonatal Rh disease. *Clin Perinatol* 1995;22:561-92.
19. Woodrow JC. Rh immunization and its prevention. En: Jensen KG, Killmann SA, ed. *The immune response in the mother*. Baltimore: Copenaghe Munksgaard, 1970:3. (Series Hematológica; III).
20. Pollock JM, Bowman JM. Anti-Rh (D) IgG subclasses and severity of Rh hemolytic, disease of the newborn. *Vox Sang* 1990;59:176-9.
21. Thomson A, Contreras M, Gorik B. Clearance of Rh-D positive red cells with monoclonal anti-D. *Lancet* 1990;336:1147-50.
22. Sids JW, Bowes WA. Ultrasound-gaidd intravascular transfusion in severe rhesus immunization. *Am J Obstet Gynecol* 1986;154:1105.
23. Steiner EA, Judd WJ, Oberman HA. Percutaneous umbilical blood sampling and umbilical vein transfusions: rapid serologic differentiation of fetal blood from maternal blood. *Transfusion* 1990;30:104-8.
24. Rossiter JP, Blakemore KJ, Cickler TS, Kasch LM, Khouzami AN, Pressman EK, et al. The use of polymerase chain reaction to determine fetal Rh-D status. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:1047-51.
25. Le Van Kim C, Mouro I, Brossard Y, Charine J, Cartron JP, Colin Y. PCR-based determination of Rh c and Rh E status of fetuses at risk of Rh c and Rh E haemolytic disease. *Br J Haematol* 1994;88:193-5.
26. Bayliss KM, Kueck BD, Johnson ST, Fueger JT, McFadden PW, Mikulski D, et al. Detecting fetomaternal hemorrhage: a comparison of five methods. *Transfusion* 1991;31:303-7.
27. Ash Fung Kee Fung K, Giulivi A, Chisholm J, Laberge S, Palmer D. Clinical usefulness of flow cytometry in detection and quantification of fetomaternal hemorrhage. *J Matern Fetal Invest* 1998;8:121-5.
28. Polesky HF. Detection of fetomaternal hemorrhage: how, when and why. *Transfusion* 1991;31:288-89.
29. Margulies M, Voto LS, Mathet E, Margulies M. High dose intravenous IgG for the treatment of severe rhesus alloimmunization. *Vox Sang* 1991;61:181-9.
30. Gravenhorst JB. Diagnosis and treatment of severe alloimmunization. *Vox Sang* 1994;67:235-8.
31. Grab D, Paulus WE, Bommer A, Buck G, Terinde R. Treatment of fetal erythroblastosis by intravascular transfusions: outcome at 6 years. *Obstet Gynecol* 1999;93:165-8.
32. Stehling L, Luban NLC, Anderson KC, Sayers MH, Long A, Attar S, et al. Guidelines for blood utilization review. *Transfusion* 1994;34:438-48.
33. Fanaroff AA, Martin RJ. Neonatal-perinatal medicine. En: *Diseases of the Fetus and Infant*. 6th ed. St. Louis: Mosby, 1997:1201-87.
34. DeAlarcón PA. Transfusiones en el paciente pediátrico y neonato. *Rev Argent Transf* 1996;22:63-9.
35. Martin C. Diagnóstico prenatal y estado actual de la prevención de la isoimmunización fetomaterna por anti-D. *Sangre* 1997;42:239-41.
36. Kumpel BM, Goodrick J, Pamphilon DH, Frases D, Poole GP, Morse C, et al. Human Rh D monoclonal antibodies (BRAD-3 and BRAD 5) cause accelerated clearance of Rh D + red blood cells and suppression of Rh D immunization in Rh D-volunteers. *Blood* 1995;86:1701-9.

37. Contreras M, Knight RC. General approach to blood transfusion and immunohematology and red blood cell serology. En: Chanarin I. Laboratory hematology. London: Churchill Livingstone. 1989:403-33.
38. Brouwers HAA, Overbeeke MAM, Gemke RJJ, Maas CJ, Leeuwen EF van, Engelfriet CP. Sensitive methods for determining subclasses of IgG anti-A and Anti-B in sera of blood group o women with a blood-group-A or B child. Br J Haematol 1987;66:267-70.
39. Brouwers HAA, Overbeke WH, Ouwehand K, Keuning Y, van Erbruggen, van Leewen EF, Stoop JW, Engelfriet CP. Maternal antibodies against fetal blood group antigens A or B: lytic activity of IgG subclasses in monocyte-driven cytotoxicity and correlation with ABO haemolytic disease of the newborn. Br J Haematol 1988;70:465-9.

Recibido: 19 de octubre de 1999. Aprobado: 3 de diciembre de 1999.

Dra. *María del Rosario López de Roux*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf: (537)578268. Fax: (537) 338979. e-mail:ihidir@hemato.sld.cu