



GRUPO C.I.A.M.T.
(GRUPO COOPERATIVO IBEROAMERICANO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL)

COMITÉ DE EDUCACIÓN CONTINUADA

COORDINADOR: DR ARMANDO CORTÉS

PROGRAMA CONSULTA AL EXPERTO

COORDINADORA: DRA GRACIELA LEÓN DE GONZÁLEZ

SISTEMA DIEGO

INMUNÓGENOS QUE NOS HERMANAN

PROFESOR INVITADO: Lic Edwin Santiago Trujillo

Asesor Científico en Inmunoematología – Immucor

Asesor Científico en Aféresis – Fresenius Kabi

Diagnóstico UAL – Lima Perú

edvinst2000@yahoo.es

NOMENCLATURA ISBT

Número: 010
Nombre: Di
Símbolo: DI
Genes: SCL4AL
Cromosoma: 17q12-q21

ISBT 10
SISTEMA DIEGO

SISTEMA DIEGO

Inmunógenos que nos hermanan

Lic. TM. Edvin Santiago Trujillo
Lima – Perú



Desde los primeros tiempos nuestros ancestros llevaron en su sangre, un factor que hoy nos ha permitido rastrear el origen de nuestros pueblos. Con el avance de la ciencia ese mismo factor nos permite hermanarnos a través de la transfusión de sangre.

“Dibujada llevo en mi sangre y mi cuerpo, cuerpo y sangre de mi patria”

Gerardo Diego Cendoya

Santander, España (1896 – 1987) fue un destacado poeta y escritor español perteneciente a la llamada Generación del 27.

INTRODUCCION

El sistema Diego fue descubierto en Venezuela en 1953, cuando Miguel Layrisse, Tulio Arends y R. Domínguez Sisco, estudiaron en el Centro de Investigaciones del Banco de Sangre de Caracas, el suero de un bebé varón quien aparentemente nació normal. La ictericia, en 12 horas se incrementó y el bebé a los tres días falleció (1). El Coombs Directo fue positivo. Se envió muestra de sangre de la mamá al Dr. Philip Levine, para investigar el anticuerpo involucrado. En 1954, Levine, Koch, McGee y Hill, reportaron un anticuerpo hallado en el suero de una mujer Venezolana, cuyo bebé tenía EHRN (3,4,5). El sistema Diego consiste en 22 antígenos: dos pares de antígenos antitéticos Di^a y Di^b , Wr^a y Wr^b , más 18 antígenos de baja frecuencia (31,45). Di^a es un marcador antropológico muy útil debido a su polimorfismo en muchas poblaciones mongoloides, pero virtualmente ausente en otros grupos étnicos (2). El antígeno Di^a representa la sustitución del

aminoácido leucina en la posición 854, en vez de prolina (antígeno Di^b) en la misma posición, sobre la banda 3. El antígeno de baja frecuencia Wr^a y el de alta frecuencia Wr^b representan sustitución de lisina en posición 658 y ácido glutámico en posición 658 respectivamente sobre la banda 3. Individuos carentes de glicoforina son $Wr(a-b-)$ y adicionalmente para que se exprese el antígeno Wr^b se requieren que estén presentes la glicoforina A y la banda 3. Los otros antígenos Diego de baja frecuencia están asociados a sustitución simple de aminoácidos en la banda 3. Hasta el momento no se ha reportado en individuos sanos el fenotipo Diego *null* lo cual indica la importancia funcional de la banda 3.

Actualmente hay nuevas herramientas de la biología molecular que se están aplicando al estudio de este interesante sistema.

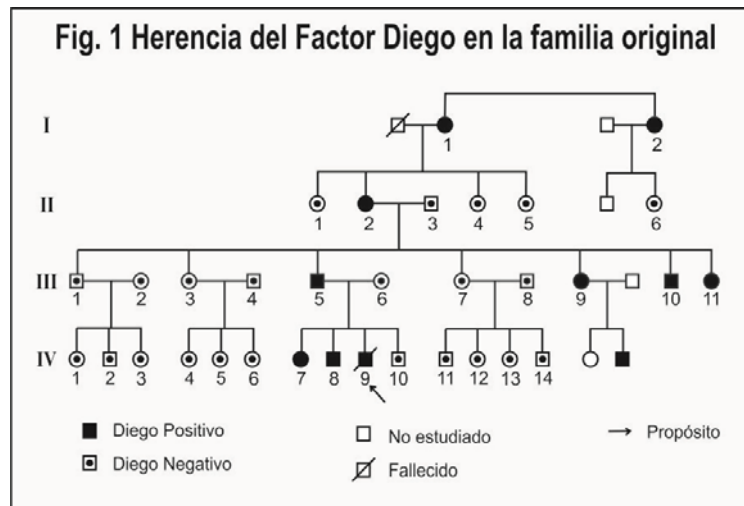
HISTORIA

En junio de 1953, muestras de una madre y su bebé Rh positivo, grupo compatible, sufriendo

enfermedad hemolítica de recién nacido fueron enviadas desde Caracas, Venezuela a Raritan (Estado Unidos) y llegaron en excelentes condiciones. Según reportaron el curso de la enfermedad fue típico, la ictericia apareció después de 12 horas y el bebé murió al tercer día con síntomas sugestivos de

realizar pruebas adicionales. La historia obstétrica de la madre, nunca transfundida, es la siguiente:

- 1949, bebé mujer normal nacida a término
- 1950, aborto involuntario a los tres meses
- 1951, bebé varón normal nacido a término, desarrolló anemia lentamente, no había ictericia



y la recuperación fue espontánea. La historia no dio ningún indicio que la isoinmunización con enfermedad hemolítica posterior fuera la causa de la anemia.

- 1953, bebé varón nacido a término (propósito), que al nacer parecía clínica y hematológicamente normal. No se determinó bilirrubina. La ictericia, se hizo evidente después de 12 horas, se incrementó severamente y el bebé falleció al tercer día. La prueba de Coombs directo fue positivo.

- 1955, bebé varón normal nacido a término, no presentó ictericia o anemia, el Coombs directo fue negativo y los hematíes no reaccionaron con el anti-Di^a (muestra estudiada por el Dr. Layrisse).

kernicterus (1,3,4).

Los hematíes del bebé eran Coombs directo positivo, y el estudio del suero de la madre contra un panel de células selectas, fue negativo, no demostrando anticuerpos eritrocitarios. En ese estudio no se incluyó hematíes del esposo. El suero del bebé y eluato preparado a partir de sus hematíes también fueron negativos en el estudio de anticuerpos. En ausencia de incompatibilidad ABO, se sospechó de un anticuerpo dirigido contra un antígeno de baja frecuencia. Este fue confirmado un mes después cuando la sangre del padre y la madre fueron estudiadas simultáneamente en Raritan. Se encontró que el suero de la madre reaccionaba fuertemente con los hematíes del esposo, sin embargo fue negativo con 200 muestras de hematíes O positivo. Posteriormente se probó contra 800 muestras de hematíes y los resultados también fueron negativos al estudio de anticuerpos. Con ocasión de una visita a Nueva York el 26 de Octubre de 1953, el padre del bebé acordó con el Dr. Philips Levine, que el nombre del nuevo "factor sanguíneo" sea: **Diego** (Di^a). El correspondiente anticuerpo fue llamado **anti-Di^a** (1,4).

No se realizaron otras pruebas debido a las dificultades de enviar muestras de miembros de extenso árbol genealógico. Cuando la madre nuevamente estuvo embarazada en 1955, el Dr. Layrisse fue consultado en Caracas y fue posible

El suero materno solo reaccionó en fase antiglobulina con un título de 512 dils, con los hematíes del esposo y de la misma manera con los hematíes de otros miembros de la familia portadores del antígeno Di^a+. Para descartar la posibilidad de ser un antígeno de baja frecuencia conocido, los hematíes del esposo se enfrentaron a antisueros conteniendo anticuerpos específicos dirigidos contra antígenos de baja frecuencia (todos tuvieron reacción negativa). El suero de la madre se probó contra hematíes conservados en congelación, que contenían antígenos raros o carecían de antígenos de alta frecuencia. Los resultados fueron negativos. Estos resultados indicarían que el antígeno Diego representaría un nuevo antígeno sanguíneo.

Miembros de la familia Diego se estudiaron para rastrear la transmisión genética y se observó que el antígeno Diego estaba en presente en 10 de 33 miembros de 4 generaciones. Este se derivó del lado materno en la generación I y II. (Fig. 1, Árbol genealógico), el padre del bebé fallecido (hijo 3) fue Di^{a+} y la madre Di^{a-}, los dos primeros hijos son Di^{a+} y el último Di^{a-} (3,4).

Se estudiaron 1000 individuos de grupo O, 200 en 1953 y 800 en 1955, y todos fueron negativos al

antígeno Di^a (caucasoides y una pequeña parte negroides). El suero usado tenía 64 dils de anti- Di^a . Layrisse y col. observaron que las características físicas de algunos miembros de la familia indicaban una mezcla con indios nativos, por lo que deciden estudiar su distribución en otras poblaciones. Aparentemente el antígeno Diego puede ser de origen mongoloide tal como sospecha. En 1955, Levine identificó un segundo ejemplo de anti- Di^a , en una enfermedad hemolítica, en una familia caucasoides (Buffalo, NY). El esposo era Di^a+ y procedía de Polonia, (origen mongoloide) (4). Los hematíes del bebé fueron recubiertos y el suero materno fue negativo con un panel de sangre seleccionada. El anticuerpo reaccionó con los hematíes del esposo. El anticuerpo se identificó como anti- Di^a , pues reaccionó con hematíes conocidos Di^a+ . Los hallazgos indican que un antígeno considerado de baja incidencia en una población puede ser de alta frecuencia en otra población.

BASES ESTRUCTURALES

Los antígenos del Sistema Diego se encuentran localizados en la superficie de la una glicoproteína multipaso de membrana llamada **banda 3**, de 95 kDa (45), conocida también como **AE1** (anión exchanger 1) o **CD 233** (2,23,31,45,47). Es una de las glicoproteínas intrínsecas de la membrana con mayor número de copias: cerca de 1,2 millones por hematíe, tiene aproximadamente una masa relativa de 100000 (2,11,47) (Fig. 2). La clonación y secuenciación de la banda 3, confirmó que tiene 911 aminoácidos y los terminales amino y carboxi son intracelulares. La parte proteica está constituida por 3 dominios: un dominio N-terminal de 403 aminoácidos, un dominio hidrofóbico transmembrana de 479 aminoácidos y un dominio C-terminal citoplasmático de 29 aminoácidos. Esta proteína atraviesa la membrana 14 veces, dejando expuesto 7 lazos extracelulares.

Actualmente se conoce que sobre la banda 3 se ubican los siguientes antígenos del sistema Diego: NFLD,

Topografía de la BANDA 3

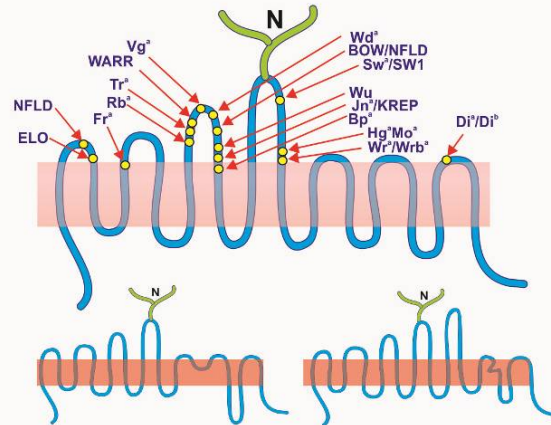


Fig. 4: Tres modelos propuestos

Siete lazos extracelulares. En amarillo, posición de los puntos de sustitución de aminoácidos, asociados con los antígenos Diego. N-oligosacárido, portando los antígenos ABH, I e i, ubicado en el lazo 4, posición Asn642. Adaptado de Geoff Daniels 2002 (3).

ELO , Fr^a , Rb^a , Tr^a , $WARR$, Vg^a , Wd^a , $BOW/NFLD$, W^u , $Jn^a/KREP$, Bp^a , $Sw^a/SW1$, Hg^a/Mo^a , Wr^a/Wr^b , Di^a/Di^b (11,37,45), $DISK$ (31) (Fig. 3). La porción N-oligosacárido se encuentra unido al cuarto lazo extracelular mediante unión covalente, específicamente con asparragina en la posición 642, no se conoce su largo, pero contiene casi la mitad de los antígenos A, B, H (2,11,34,37) del hematíe así como también contiene los antígenos I e i (2). Para la formación del antígeno Wr^b participan aminoácidos del cuarto lazo y parte de la glicoforina A (11,34,37). Las funciones que cumple la banda 3 son múltiples: participa en la regulación de pH intracelular y la homeostasis iónica in vivo por intercambio transmembrana de Cl^-/HCO_3^- , fija la membrana

Membrana celular y BANDA 3

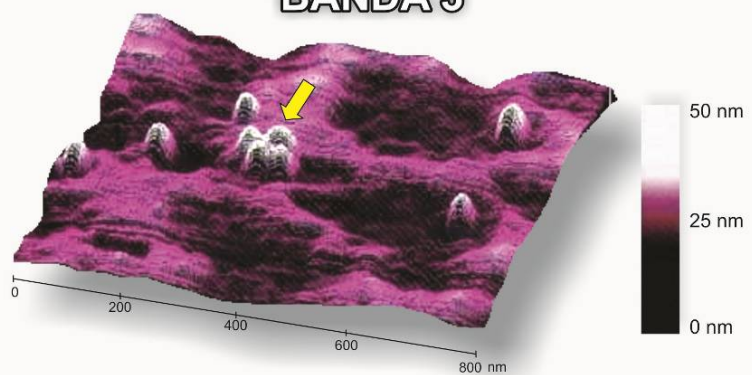


Fig. 2: Banda 3 en la superficie de la membrana celular (flecha)

Adaptado de: http://en.wikipedia.org/wiki/file:Band_3_Atomic_microscope.jpg

Antígenos del Sistema Diego, Banda 3, Glicoforina A

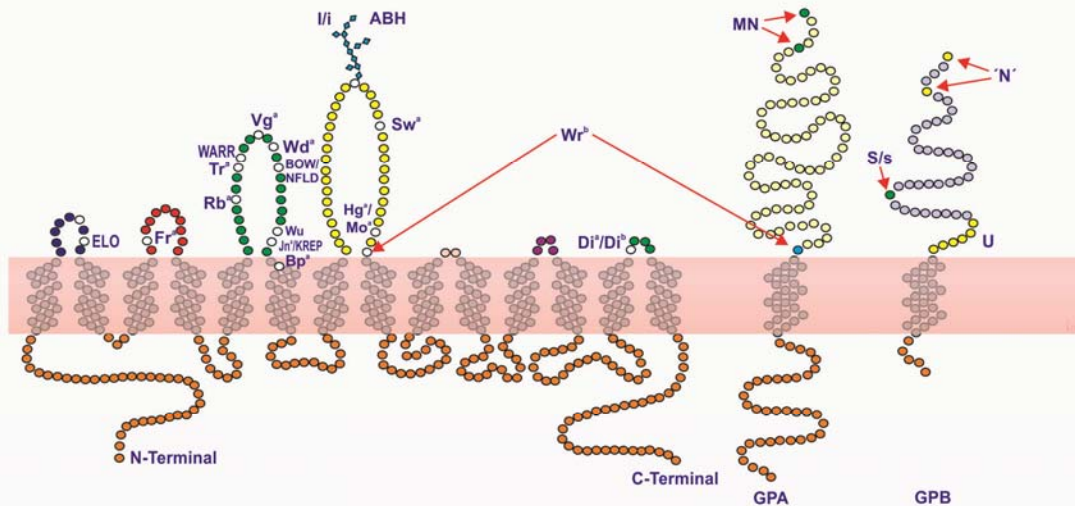


Fig. 3: Ubicación de los antígenos del Sistema Diego: NFLD, ELO, Fr^a, Rb^a, Tr^a, WARR, Vg^a, Wd^a, BOW/NFLD, W^a, Jn^a/KREP, Bp^a, Sw^a/SW1, Hg^a/Mo^a, Wr^a/Wr^b, Di^a/Di^b, DISK. Relación del Wr^a con la glicoforina A. Adaptado de Rossis's 2009 (37).

celular al esqueleto celular, participa en la citoadhesión e invasión de *P. falciparum* y senescencia de los hematíes (11,12,34,37,45,46,47). La topografía de la banda 3 ha sido estudiada ampliamente, lo que ha permitido que se describan adicionalmente dos modelos topográficos alternativos (Fig. 4)

GENETICA

Para conocer el origen y el polimorfismo del Sistema Diego, se ha estudiado ampliamente al gen **SLC4A1** (*Solute Carrier Family 4, Anion Exchanger Member 1*). En 1992, Spring y col. reconocieron una asociación entre la banda 3 y el sistema Diego. Mediante electroforesis (SDS-PAGE) encontraron que los hematíes Di^{a+}, siempre tenían la banda 3 variante Memphis II, aunque no todos los hematíes banda 3 variante Memphis eran Di^{a+} (Memphis I) (1,37,50).

En 1993 el locus del Sistema Diego fue asignado al cromosoma 17q12-q21 (1,2,23,35,45,51) (fig. 5) y mediante la clonación y secuenciación del gen productor de la banda 3 (**SLC4A1**) se identificó la base molecular del sistema

Diego. Este gen está constituido de 20 exones y 19 intrones (45), 5 de los cuales son los que codifican los diferentes antígenos del sistema Diego (Tabla 1). El análisis molecular de la banda 3 de individuos Di^{a+}, demuestran una mutación simultánea: para el antígeno Di^a hay una sustitución simple de nucleótidos (2561T>C) que origina el cambio de leucina (Di^a) por prolina (Di^b) en la posición 854 en el cuarto lazo extracelular (2,23,37) y para la variante

Memphis hay una sustitución simple en el exón 4, 166A>G que permite el cambio de aminoácido lisina por ácido glutámico en la posición 56, dentro del dominio N-terminal citoplasmático (1,2,48,52). La banda 3 variante Memphis tiene una alta incidencia en negros americanos (16%), nativos americanos (17-25%), chinos (13%), filipinos (17%) y japoneses (29%) (2) y coincidentemente son poblaciones en donde es frecuente encontrar el antígeno Di^a.

Cromosoma 17

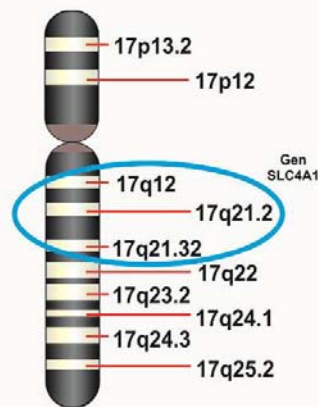


Fig. 5: Cromosoma 17q12-q21, portador del gen **SLC4A1**

Nº de lazo	1	2	3	4	7
Aminoácidos extracelulares	428-477	478-542	543-600	631-686	828-885
Exón	12	13	14	16	19
Pares de base	149	195	174	167	174
Antígenos	NFLD, ELO	Fr ^a	Rb ^a , Tr ^a , WARR, Vg ^a , Wd ^a , BOW/NFLD, W ^u , Jn ^a /KREP, Bp ^a	Sw ^a /SW1, Hg ^a /Mo ^a , Wr ^a /Wr ^b , ABH (n-Oligos.	Di ^a /Di ^b

El antígeno Wr^a fue ubicado en el cuarto lazo y el antígeno Wr^b, solo puede expresarse si están presentes la banda 3 y la glicoforina A; su posición se ha localizado en la región que abarca los residuos 61-70 de la glicoforina A, adyacente al punto de entrada en la membrana (36). Hay una sustitución

gen de la banda 3. Se encontró que había cambio simple de nucleótidos en los exones 2, 12, 14 y 16, los que ocasionaron cambios de aminoácidos en los lazos extracelulares 1, 2, 3 y 4, generando los antígenos del sistema Diego (tabla 2) y no hay evidencia que alguna de estas sustituciones hayan afectado la función de la banda 3.

ANTIGENOS

Los antígenos del sistema Diego son 22 y están distribuidos sobre la banda 3, ubicándose en 5 de los 7 lazos extracelulares (31). Hay dos antígenos de alta

Fenotipo	Nombre del Alelo	Cambio nucleótido	Frecuencia	Exón	Cambio Aa
Di:1,-2 ó Di(a+b-)	DI*01 o DI*A	2561C>T	Baja	19	Pro854Ileu
Di:-1,2 ó Di(a-b+) [1]	DI*02 o DI*B	2561C	Alta	19	Pro854
Di:3,-4 ó Wr(a+b-)	DI*02.03	1972G>A	Baja	16	Glu658Lys
Di:5 ó Wd(a+)	DI*02.05	1669G>A	Baja	14	Val557Met
Di:6 ó Rb(a+)	DI*02.06	1643C>T	Baja	14	Pro548Leu
Di:7 ó WARR+	DI*02.07	1654C>T	Baja	14	Thr552Ile
Di:8 ó ELO+	DI*02.08	1294C>T	Baja	12	Arg432Trp
Di:9,-22 ó Wu+, DISK- [2]	DI*02.09	1694G>C	Baja	14	Gly565Ala
Di:10 ó Bp(a+)	DI*02.10	1707C>A	Baja	14	Asn569Lys
Di:11 ó Mo(a+)	DI*02.11	1967G>A	Baja	16	Arg656His
Di:12 ó Hg(a+)	DI*02.12	1966G>T	Baja	16	Arg656Cys
Di:13 ó Vg(a+)	DI*02.13	1663T>C	Baja	14	Tyr555His
Di:14 ó Sw(a+)	DI*02.14.01	1937G>A	Baja	16	Arg646Gln
Di:14 ó Sw(a+)	DI*02.14.02	1936C>T	Baja	16	Arg646Trp
Di:15 ó BOW+	DI*02.15	1681C>T	Baja	14	Pro561Ser
Di:16 ó NFLD+	DI*02.16	1287A>T; 1681G>G	Baja	12;14	Glu429Asp; Pro561Ala
Di:17 ó Jn(a+)	DI*02.17	1696C>T	Baja	14	Pro566Ser
Di:18 ó KREP+	DI*02.18	1696C>G	Baja	14	Pro566Ala
Di:19 ó Tr(a+)	DI*02.19	1653C>G	Baja	14	Lys551Asn
Di:20 ó Fr(a+)	DI*02.20	1438G>A	Baja	13	Glu480Lys
Di:21 ó SW1+	DI*02.21	1936C>T	Baja	16	Arg646Trp
Fenotipo Null					
Di(a-b-)	DI*02N.01	1462G>A	Raro	13	Val488Met
[1] DI*02 codifica a los antígenos Di ^b , Wr ^b , DISK					
[2] Poole J, et al. Novel high incidence antigen in the Diego blood group system (DISK) and clinical significance of anti-DISK. Vox Sang 2010; 99(Suppl.1):54-55.					
[3] Adaptado de International Society of Blood Transfusion, Blood Group Allele Terminology (Ref. 31)					

simple de nucleótidos (1972A>G) que origina en cambio de aminoácidos en la posición 658 del Wr^b que tiene ácido glutámico por lisina (1,23) (ver Tabla 2). La herencia del Di^a es de tipo autosómico dominante. A partir de 1996, otros antígenos de baja frecuencia (DI5 a DI21) fueron asignados al Sistema Diego, luego de reconocer una asociación entre la expresión de cada antígeno y una mutación en el

frecuencia: Di^b y Wr^b, mientras que Di^a, Wr^a y los 18 antígenos restantes son considerados de baja frecuencia. Estos antígenos se encuentran bien desarrollados al momento de nacer (10,20,24). Hasta la fecha no ha sido hallado el fenotipo Diego *null*, Di(a-b-) en personas sanas, pues se consideraba fatal, sin embargo se describe el caso de un bebé

con deficiencia total de banda 3 y que podría considerarse un Diego *null* (2,23).

Algunos antígenos del sistema Diego han sido localizados en las regiones de la banda 3 implicadas en la adhesión de hematíes anormales (sickle cells o hematíes infectados con malaria) con el endotelio vascular (23,37).

Los antígenos Di^a , Di^b , Wr^a y Wr^b son resistentes al tratamiento con ficina, papaína, tripsina, pronasa, sialidasa, alfa-quimiotripsina, dithiotreitol (0.2 M), 2-aminoetilisotiuronium (AET) y difosfato de cloroquina (2,20,23,35). Los otros antígenos Diego son resistentes a ficina, papaína, tripsina y alfa-quimiotripsina, excepto el antígeno ELO y Rb^a , quienes tienen comportamiento variable (2). Se ha reportado individuos sanos con antígeno Di^b débil. En pacientes con ovalocitosis del sudeste asiático (SAO) el antígeno Di^b se encuentra deprimido (2). Estos antígenos también han sido ubicados en las células intercalares de los túbulos distales y colectores del riñón, y sobre los neutrófilos (Di^b); no se han encontrado sobre plaquetas y linfocitos (13,35).

Mediante la técnica de inmunoelectromicroscopía con ferritina marcada con anti-IgG se determinó que la densidad antigénica del Di^b (Di^{a-b+}), es de 15400 puntos antigénicos por hematíe (14,18). El antígeno Wr^a fue descrito por primera vez por Holman en 1953, con una frecuencia de 1 en 1000 en población caucásica. Pueden tener variación individual en la fuerza de expresión antigénica y se encuentran bien desarrollados al momento de nacer. No se ha detectado en linfocitos, granulocitos o monocitos (2). El fenotipo $Wr(a-b-)$, extremadamente raro, se ha encontrado en individuos con variantes de la glicoforina A; el Wr^b se expresa solo cuando están la banda 3 y la glicoforina A funcional (23).

Muchos de los antígenos de baja frecuencia se han encontrado en pequeñas familias o grupos étnicos aislados. Por ejemplo el antígeno Wd^a se ha encontrado solo en población Hutterite, especialmente en miembros de apellido Waldner (22). El sistema Diego juega un rol importante en la medicina transfusional, pues está involucrado en casos clínicos de EHRN, reacciones transfusionales inmediatas y retardadas, por lo que constantemente se están diseñando nuevas herramientas para su estudio. En los paneles celulares eritrocitarios ya se incluye el antígeno Di^a , de manera que se pueda investigar serológicamente su presencia. Actualmente la investigación de los antígenos

eritrocitarios se ha llevado al campo de la biología molecular, de manera que se están planteando metodologías simples, rápidas y precisas para el genotipado del sistema Diego, como por ejemplo el HEA BeadChip Assay (54) (Human Erythrocyte Antigen BeadChip) y PCR-SBT (PCR sequence-based typing) (49). Su utilidad se enfoca en la detección masiva de Di^a y Di^b en donantes para disponer de unidades genotipadas, y en pacientes para ampliar los estudios serológicos muchas veces no concluyentes y que requieran ser transfundidos sin complicación alguna.

ANTICUERPOS

El anti- Di^a , fue descrito por primera vez en una mujer Venezolana en 1953 (4). El anti- Di^b fue descrito en 1967 (35); junto al anti- Wr^a , el anti- Wr^b y el anti-ELO se clasifican como anticuerpos clínicamente significativos (37), pues se encuentran involucrados en: enfermedad hemolítica del recién nacido (2,15,16,19,20,21,27,28,42,43), reacción post-transfusional hemolítica retardada (2), reacción hemolítica inmediata (40) y post-transplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (53).

Los anticuerpos de los otros antígenos de baja frecuencia ($DI5$ a $DI21$) se consideran anticuerpos sin importancia clínica (2).

La enfermedad Hemolítica del Recién Nacido puede ser leve (28,43), moderada (24) o severa (10,44). Hay casos de EHRN ocasionados por anti- Di^a , que tuvieron curso fatal (4,29). La sensibilización se produce por embarazos previos (4,43) o transfusiones previas (27), aunque se ha reportado el caso de una mujer australiana en donde aparentemente el anticuerpo fue de "ocurrencia natural" (2,6,15). Estos anticuerpos son generalmente IgG, y pertenecen a las subclases IgG1 (14,15,19,23), IgG3 (14,15,19,23,26,28) e IgG4 (25), algunos pueden fijar complemento intensamente (19,23). También se han reportado algunos ejemplos de anticuerpo IgM (2,3). Se ha demostrado efecto de dosis: homocigosis versus heterocigosis con células $Di^{(a+b-)}$ y $Di^{(a+b+)}$ respectivamente (8,17). Los títulos del anticuerpos pueden llegar ser de muy altos (256, 512 hasta 4096 dil) (10,19,21). En una paciente con tres unidades compatibles transfundidas se presentó ictericia y disminución de hemoglobina, compatible con una reacción post-transfusional hemolítica retardada. Luego se determinó su especificidad, era un anti- Di^b (2,17). Se reportó un anti- Di^b , que no ocasionó EHRN, a pesar de ser IgG3 y responsable

que el CD del bebé fuera fuertemente positivo. Se reportó un anti-Di^b, sin historia transfusional, pero presente en el primer embarazo; se pensó que sería de "ocurrencia natural" o inmunización fetomaterna en un periodo temprano de la gestación (10). Se han reportado también como un autoanticuerpo junto con otros autoanticuerpos (2). Mediante la técnica de monocitos en monocapa (MMA), se ha demostrado que anti-Di^a y anti-Di^b, producen un alto grado de adherencia y fagocitosis con hematíes Di^a y Di^b respectivamente, lo que evidencia su importancia clínica (2,10,14,15). Algunos tienen pobre actividad funcional (28). También se ha reportado un anti-Di^b de tipo IgG4, involucrado en una EHRN, con un score MMA de solo 8%. Esto explicaría el curso benigno de la EHRN, a pesar de tener un título de 512 dil. Un score MMA mayor de 20% predice la necesidad de transfundir en un 92% de casos (10). Las observaciones de varios investigadores indican que el anti-Di^b no es muy peligroso para el feto/recién nacido (28).

La mayoría son detectados mediante la técnica de antiglobulina indirecta (2,17,20,24,27,35), sin embargo se han encontrado anti-Di^a y anti-Di^b que aglutinaban directamente (2,15).

En orientales, la EHRN causado por anti-Di^b, parece ser más severo que el causado por anti-Di^a (42). Actualmente todavía hay instituciones que realizan la investigación de anticuerpos con paneles celulares carentes del antígeno Di^a. En caso de investigar la causa de la EHRN, la detección de anticuerpos puede resultar negativa (14,15,16,19,21,39,44), a pesar que los hematíes del bebé sean CD+. En estos casos una prueba antiglobulina indirecta entre los hematíes del esposo y el suero de la madre dan reacciones positivas (39). El eluato de los hematíes del bebé con los hematíes del papá, también dan reacciones positivas. Debido a estas discrepancias serológicas, algunos investigadores han recomendado la inclusión del antígeno Di^a, en los perfiles antigénicos de los paneles celulares (15,43,44) de manera que hoy en día, es casi una exigencia incluir células Di^{a+} en los paneles eritrocitarios de nuestra región.

En Japón se ha fabricado anti-Di^a de tipo monoclonal; se han creado dos líneas de heterohidridomas, HMR15 y HMR22, mediante la transformación linfocitos de sangre periférica (EBV) de un donante con anti-Di^a. La clona HMR15 aglutina directamente hematíes Di^{a+}, mientras que la clona HMR22 aglutina hematíes Di^{a+} mediante la técnica de AGH indirecta (2,41).

El anti-Wr^a descubierto en 1953 (6), es un anticuerpo relativamente común y se puede encontrar en donantes sanos, con una incidencia de 0,1% a 7,6%. Se detectan mediante la técnica de antiglobulina indirecta y algunos pueden aglutinar directamente; de 44 anti-Wr^a, 43% fueron IgG, 36% fueron IgM y 20% fueron una mezcla de IgG e IgM (2, 23). La mayoría son de tipo IgG1. Han sido implicados en EHRN y en reacción post-transfusional. Se ha producido un anticuerpo monoclonal IgG1 anti-Wr^a (BGU1-WR) luego de inmunizar un ratón con hematíes Wr^{a+} (2).

El anti-Wr^b descrito en 1971, se ha reportado en un recién nacido con CD positivo, en una reacción post-transfusional leve y en una hemólisis intravascular fatal (9). Los resultados de ensayos funcionales con quimioluminiscencia sugieren que el anti-Wr^b causaría incremento en la destrucción de hematíes Wr^b transfundidos. Es considerado también un autoanticuerpo relativamente común. Debido a la posición del Wr^b en la glicoforina A (adyacente al punto de entrada en la membrana) la fijación del anti-Wr^b, ocasiona rigidez, por lo tanto una reducción en la deformabilidad de la membrana del hematíe (36). Ya se han descrito anticuerpos monoclonales de ratón y de mono Rhesus (2).

En anti-ELO se ha reportado en EHRN moderada y severa. Son de tipo IgG y la mayoría del isotipo IgG3, y pueden ser IgM. Los anticuerpos contra los antígenos de baja frecuencia del sistema Diego, muchas veces se encuentran en sueros multiespecíficos y pueden producirse sin estímulo conocido (2).

ANTROPOLOGIA

La antropología consiste en el estudio del hombre como población en el espacio y en el tiempo. Las poblaciones mundiales se dividen en troncos raciales: Europeos, Africanos o Negroides, Asiáticos o Mongoloides y Australianos. Para conocer aspectos migracionales y evolutivos de nuestros pueblos, se estudian los marcadores genéticos ubicados en el tejido sanguíneo humano. Estos pueden ser: marcadores genéticos clásicos (grupos sanguíneos y polimorfismos proteicos) y marcadores de DNA nucleares (fragmentos de restricción de longitud polimórfica, fragmentos de DNA repetitivos, microsatélites y otros marcadores del DNA mitocondrial). El estudio de grupos sanguíneos se considera muy útil en la antropología física o biológica (38). El antígeno Di^a es utilizado

como un marcador antropológico muy útil (2). Los estudios de frecuencia del antígeno Di^a han aportado información valiosa en los estudios de migración de pueblos desde el sudeste asiático (raza mongoloide), a través del estrecho de Bering hacia el

Cuando se encuentra antígeno Di^a en caucasianos, se presume un ancestro mongoloide. En población polaca se han encontrado individuos Di^{a+} (0,46%), que forman anticuerpos anti- Di^b , y se sugiere que la mezcla genética se produjo cuando los polacos fueron invadidos por tártaros (genes mongoles) en el siglo XIII, como también durante el siglo 15 a 17 (19,20).

Dentro de los pueblos indioamericanos se considera dos migraciones hacia Centroamérica y Sudamérica en dos épocas diferentes. Los más primitivos (Di^a) y los grupos con agricultura en transición (Di^{a+}). Sin embargo se han encontrado tribus como los Chibchas, que carecen del Di^a .

Layrisse, Arends y Domínguez encontraron que de 266 individuos de Caracas, estudiados al azar, 6 tenían el "factor" positivo (Di^a). El hallazgo más importante fue que los miembros de la familia Diego y los casos positivos previamente estudiados, demostraban rasgos físicos mongoloides. El lugar de origen de sus antepasados dió una pista a la posibilidad de

mezcla indios Caribales. En un estudio con una población de indios Caribales, de 170 individuos no relacionados 50 (29%) eran Di^{a+} . Posteriormente Layrisse y Arends investigaron otras tribus indias, caucasoides, mongoloides asiáticos y otros, con la finalidad de encontrar el verdadero significado racial del antígeno Di^a . En indios caribales de Venezuela se encontró entre 25-29% de Di^{a+} (38), en Aymaras (9%) y Quechuas de Perú (13,4%), en indios Mapuche de Chile (2,1%), en indios Purumamarca de Argentina (1,5%) (33).

En un estudio realizado con 141 tribus indio americanas se encontró que 26 (18%) no presentaban el Di^a (< 1% de Di^a) y de estas 20 (77%) pertenecían a los Chibchas (Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Colombia, Ecuador y Venezuela) (7). Una teoría que explica porque no tienen el antígeno Di^a , es que hubo pérdida del alelo Di^a , en el proceso de divergencia de los Chibchas, por la acción de procesos aleatorios y que se dan cuando una población se mantiene por muchos años en una



Fig. 6: Migración asiática por el estrecho de Bering.

En 1908, el antropólogo Álex Hrdlicka planteó que los primeros pobladores de América fueron los cazadores paleomongoloides asiáticos, que ingresaron por el valle de Yucón, Alaska (10000 a.C. aproximadamente).

sur del continente americano (37) (Fig. 6).

El gen **SLC4A1** presenta polimorfismo casi exclusivamente entre personas mongoloides y es a menudo difícil de eliminar ancestros mongoloides; este polimorfismo no está presente en otros grupos étnicos (2,6,49). El antígeno Di^a es de baja incidencia en personas de descendencia europea, quienes portan su antígeno antitético Di^b de alta frecuencia, entre 91,6 a 100% (9,10,37). El antígeno Di^a está ausente en negros y caucasianos (30,32), pero está prácticamente confinado a población de origen mongólico, con una incidencia en chinos de 2-5%, polacos 0,25-0,91%, japoneses 8-12%, mexicano-americano 8,2-14,7% y algunas tribus americanas de 7-54% (2,10,21,32,45,50). En un estudio reciente llevado a cabo entre miembros de la tribu brasileña Parakana, se ha encontrado que la frecuencia del antígeno Di^a es del 75,7% (45). Sorprendentemente éste antígeno es raro en población de esquimales Inuit de Alaska y Canadá, pero relativamente común en esquimales Inuit Siberianos (2).

región determinada (cerca de 6000 años). Los Chibchas tienen cerca de 7000 años asentados en la región (7).

Como se ha podido apreciar, el sistema Diego (Di^a) ha servido para rastrear a nuestros ancestros procedentes de Asia (raza asiática) y a su vez evidenciar los lazos de sangre que nos unen desde los primeros tiempos.

Rasgos mongoloides:

Cara plana con pómulos prominentes, cabello negro, ojos negros o marrones, piel pálida hasta moreno oscuro, cabello lacio, ojos pequeños y rasgados, labios delgados y bocas a menudo pequeñas, de corta estatura y piernas relativamente cortas).

BIBLIOGRAFIA

- 1 Junqueira P, Castilho L. *The history of the Diego Blood group*. Rev. bras. hematol. Hemoter 2002, 24(1):15-23.
- 2 Daniels G. Human Blood Groups. 2da Edición. USA: Blackwell Science Ltd, 2002. Cap. 10 (pp. 352-368). ISBN 0-632-056460.
- 3 Levine P, Robinson E, Layrisse M, Arends T, Domingues R. The Diego blood factor. Nature 1956; 177:40-41.
- 4 Levine P, Robinson E. Some observations on the New Human Blood Factor Di^a. Blood 1957;12:448-453.
- 5 Layrisse M, Arend T. The Diego System – Step in the investigation of a New Blood Group System. Further Studies. Blood 1957;12(2):115-122.
- 6 Simmons R. The Apparent Absence of the Diego (Di^a) and the Wright (Wr^a) Blood Group Antigens in Australian Aborigines and in New Guineans. Vox Sang 1970;19:533-536
- 7 Barrantes R. Una hipótesis evolutiva sobre la ausencia del antígeno Diego (Di^a) en Amerindios Chibchas. Rev. Biol. Trop. 1990;38(2A):277-282
- 8 Layrisse M, Sanger R, Race R. The inheritance of the Antigen (Di^a). Evidence for Its Independence of Other Blood Group Systems. Am J Hum Genet. 1959; 11(1): 17–25.
- 9 Marion R, Lomas-Francis C. The Blood Group Antigen 2da. Edición USA: Elsevier Ltda. 2004. ISBN 0-12-586585-6.
- 10 Mochizuki K, Ohto H, Hirai S, et al. Hemolytic disease of the newborn due to anti-Di^b: a cause study and review of the literature. Transfusion 2006;46:454-460.
- 11 Jarolim P, Rubin H, Zakova D, et al. Characterization of Seven Low Incidence Blood Group Antigens Carried by Erythrocyte Band 3 Protein. Blood 1998;92(12):4836-4843.
- 12 Daniels G. Structure and Function of red cell surface antigens. ISBT Science Series 2006;1:3-8
- 13 Kuriyan M, Owen R, Marsh W. Demonstration of Diego (Di^b) and Scianna (Sci) Antigens on Phagocytic Leucocytes of the Blood. Transfusion 1978;18(3):361-364.
- 14 Alves de Lima L, Berthier M, Sad W, DiNapoli J, et al. Transfusion 1982;22(3):246-247.
- 15 Simmons R, Albrey J, Morgan J, Smith A. The Diego Blood Group: Anti-Di^a and the Di^(a+) Blood Group Antigen Found in Caucasians. Med. J. Australia 1968;1:406.
- 16 Buchanan D. Diego Antibodies. Transfusion 1983;23(1):80
- 17 Thompson P, Childers D, Hatcher D. Anti-Di^b First and Second Examples. Vox Sang 1967;13:314-318.
- 18 Masouredis S, Sudora E, Mahan L, Victoria E. Quantitative Immunoferritin Microscopy of Fy^a, Fy^b, Jk^a, U and Di^b Antigen Site Numbers on Human Red Cells. Blood. Blood 1980;56:969-977.
- 19 Kusnierz-Alejska G, Bochenek S. Haemolytic Disease of the Newborn due to Anti-Di^a and incidence of the Di^a Antigen in Poland. Vox Sang 1992;62:124-126.
- 20 Feller C, Shenker L, Scott E, Marsh L. An anti-Diego b (Di^b) Antibody Occurring during Pregnancy. Transfusion 1970;10:279-280.
- 21 Graninger W. Anti-Di^a and the Di^a Blood Group. Antigen found in an Austrian family. Vox Sang 1976;31:131-135
- 22 Lewis M. A “New” Low incidence “Hutterite” Blood Group Antigen Waldner (Wd^a). Am J Hum Genet 1981;33:418-420.
- 23 Byrne K, Byrne P. Review: other blood group systems – Diego, Yt, Xg, Scianna, Dombrock, Colton, Landsteiner-Wiener and Indian. Immunohematology 2004;20:50-51
- 24 Gottlieb A. Hemolytic Disease of the Newborn Due to Anti-Di^b. Vox Sang 1971;21:79-80
- 25 Donato E, Guinot M, Vilar C et al. rHuEPO in the management of pregnancy complicated by anti-Di^b. Transfusion 2003;43:681-682
- 26 Habash J, Devenish A, Macdonald S, et al. A further example of anti-di^b not causing haemolytic disease of the newborn. Vox Sang 1991;61:77
- 27 Ishimori T, Fukumoto Y, Abe K, et al. Rare Diego group phenotype Di(a+b-) I. Anti-di^b causing Hemolytic disease of the newborn. Vox Sang 1976;31:61-63.
- 28 Lenkiewicz B, Zupanska B. The first example of anti-Di^b found in a Polish woman with the Di(a+b-) phenotype and hemolytic disease of the newborn not requiring treatment. Transfusion Medicine 2003;13:161-163.
- 29 Tatarsky J, Stroup M, Levine P, et al. Another Example of anti-Diego (Di^a). Vox Sang 1959;4:152-154.
- 30 Gershowitz H. The Diego Factor among Asiatic Indians, Apaches and West African Negroes; Blood types of Asiatic Indians and Apaches. Am J Phys Anthropol 1959;17:195-200.
- 31 International Society of Blood Transfusion, Blood Group Allele Terminology.

- http://www.isbtweb.org/fileadmin/user_upload/WP_on_Red_Cell_Immunogenetics_and/010_DI_Alleles_v2.0_110914.pdf (visita Enero 2012)
- 32 Edwards-Moulds J, Alperin J. Studies of the Diego blood group among Mexican-Americans. *Transfusion* 1986;26:234-236.
 - 33 Best W, Layrissé M, Bermejo R. Blood group antigens in Aymara and Quechua speaking tribes from near Puno, Perú. *Am J Phys Anthropol* 1962;20:321-329.
 - 34 Anstee D. Blood group antigens defined by the amino acid sequence of red cell surface proteins. *Transfusion Medicine* 1995;5:1-13.
 - 35 Hillyer C. et al. *Blood Banking and Transfusion Medicine*. 2nd ed. United States, Churchill Livingstone, 2007. ISBN-10:0-443-06981-6.
 - 36 Paulitschke M, Nash G, Anstee D, et al. Perturbation of red blood cell membrane rigidity by extracellular ligands. *Blood* 1995;86:342-348.
 - 37 Simon T, et al. *Rossi's Principles of Transfusion Medicine*. 4th Ed. United States, Wiley-Blackwell Offices, 2009. ISBN-978-1-4051-7588-3.
 - 38 Layrissé M. Anthropological considerations of the Diego (Di^a) antigen. Possible application in the studies of Mongoloid and hybrid populations. *Am J Phys Anthropol* 1958;16:173-186.
 - 39 Monestier M, Rigal D, Meyer F, et al. Hemolytic disease of newborn infants caused by anti-Diego antibodies. *Arch Fr Pediatr* 1984;41:641-643.
 - 40 Hinckley M, Huestis D. Case report. An immediate hemolytic transfusion reaction apparently caused by anti-Di^a. *Rev Fr Transfus Immunohematol* 1979;22:581-585
 - 41 Miyazaki T, Sato S, Kato T, et al. Human anti-Di^a monoclonal antibodies for mass screening. *Immunohematology* 2000;16:78-81
 - 42 Chen C, Broadberry R, Chang F, et al. Hemolytic disease of the newborn caused by maternal anti-Di^b: a case report in Taiwan. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)* 1993;52:262-264.
 - 43 Yung C, Lin J, Hu H, et al. Hemolytic disease of the newborn caused by maternal anti-Di^a: a case report in Taiwan. *Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi* 1995;28:146-150.
 - 44 Lee S, Im S, Park S, et al. A case of severe hemolytic disease of the newborn due to anti-Di^a antibody. *Korean J Lab Med* 2007;27:373-376.
 - 45 Costa Nunes A. Estudo do polimorfismo do sistema sanguíneo Diego em populações de brancos, asiáticos, negros, índios e doadores de sangue da região de Ribeirão Preto. Tesis de Maestría, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, Departamento de Clínica Médica, Sao Paulo Brasil, 2004.
 - 46 Cartron J. Blood groups: genetics and physiology. *ISBT Science Series* 2010;5:27-45
 - 47 Bruce L, Beckmann R, Leticia Ribeiro M, et al. A band 3-based macrocomplex of integral and peripheral proteins in the RBC membrane. *Blood* 2003;101:4180-4188
 - 48 Júnior W. Molecular study of the DI A / DI B and Memphis band 3 alleles in the Brazilian population. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2002;24:314-315.
 - 49 Xu X, He J, He Y, et al. Distribution of Diego blood group alleles and identification of four novel mutations on exon 19 of *SLC4A1* gene in the Chinese Han population by polymerase chain reaction sequence-based typing. *Vox Sang* 2011;100:317-321.
 - 50 Baleotti W, Rios J, Reid M, et al. A novel *DI*A* allele without the band 3-Memphis mutation in Amazonian Indians *Vox Sang* 2003;84:326-330.
 - 51 Silverstein L. *Molecular and Functional Aspects of Blood Group Antigens United States: American Association of the Blood Banks*, 1995. 245 p. ISBN: 1-56395-048-0
 - 52 Schawalder A, Hue-Roye K, Castilho L, et al. Analysis in non-human primates reveals that the ancestral Band 3 gene encodes Di^b and the Band 3-Memphis phenotype. *J Med Primatol* 2006;35:144-148.
 - 53 Zupanska B, Maciej Zaucha J, Michalewska B, et al. Multiple red cell alloantibodies, including anti-Di^b, after allogeneic ABO-matched peripheral blood progenitor cell transplantation. *Transfusion* 2005;45:16-20.
 - 54 Ribeiro K, Guarnieri M, Da Costa D, et al. DNA array analysis for red blood cell antigens facilitates the transfusion support with antigen-matched blood in patients with sickle cell disease. *Vox Sang* 2009;97:147-152.