

G E N E T I C A

CUANTIFICACION DE LA DEPRESION ALELICA EN EL GRUPO A₁B

Marín Rojas Rafael A.*

ABSTRACT

The reactivity of A₁ antigen in two groups of erythrocytes A₁ and A₁B was determined by means of quantitative agglutinations technique. Two anti A type serum, with 1/2048 and 1/512 titers, were utilized. The DH₅₀ for the group A₁ red cells was 1/578 and 1/549, for the A₁B was 1/357 and 1/276. This indicated an antigen A₁ depression in the A₁B group of 38% and 50% respectively.

La depresión alélica es la manifestación más frecuente de la interacción genética que se da en el grupo AB y se caracteriza por una disminución en la aglutinabilidad o por una disminución en el número de determinantes antigénicos A o B. Sin embargo, lo más frecuente es la depresión de A,

que en algunas ocasiones puede llevar al cambio fenotípico de un subgrupo a otro más débil (8). En Costa Rica ya se estudió parte de este fenómeno y se encontró un exceso de A₂B, respecto a lo estadísticamente esperado, cuando se utilizó la técnica semicuantitativa de aglutinación en lámina (6,7). Sin embargo, la depresión alélica puede darse sin llegar al extremo de un cambio fenotípico y por lo tanto pasar desapercibida en la agrupación rutinaria donde se utiliza una técnica semicuantitativa de aglutinación en lámina o tubo (1). Por lo anterior decidimos utilizar un método más sensible para medir este fenómeno en el grupo A₁B tomando como referencia al grupo A₁. Por ello escogimos la técnica de aglutinación cuantitativa de Gibbs-Akeroyd (4), que ha

sido muy utilizada en estudios de antígenos solubles, eritrocíticos y de anticuerpos (3,9,10,11,12,13). Dichos autores hicieron una medición de este tipo comparando las dosis hemaglutinantes 50% (DH₅₀) pero utilizaron muestras muy pequeñas con las que obtuvieron resultados contradictorios (5). Por tal motivo realizamos este trabajo, con una muestra más grande, para cuantificar este fenómeno en la población A₁B de nuestro país.

MATERIALES Y METODOS

Dos lotes de suero anti A, de diferentes casas comerciales, se conservaron en alícuotas a 25°C hasta su uso. Sus títulos fueron de 1/2048 y 1/256 respectivamente. Un total de 16 sangres

* Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

A_1 y 12 A_1B se probaron con el primer lote mientras 12 A_1 y 21 A_1B se probaron con el segundo. Las sangres frescas se conservaron en solución de Alsever hasta su utilización, en un plazo no mayor de 15 días. La técnica de aglutinación cuantitativa consiste en lo siguiente: se lavan los eritrocitos 5 veces en una solución buffer de pH 7.3 y se suspenden en una concentración de 11.500-14.000 por mm^3 . Las diluciones del suero se realizan en el mismo buffer y se preparan, por duplicado, 0.5 ml de la suspensión con 0.5 ml de la dilución del suero, en tubos de 10 x 75 mm. Los controles se preparan en las mismas condiciones sustituyendo la dilución del suero por la solución tamponada. Los tubos se dejan reposar por 20 minutos después de lo cual se centrifuga 20 minutos a 65G. Los eritrocitos se suspenden suavemente y los tubos se ponen en un oscilador a 15 rpm durante 2 1/2 horas. Después de esta incubación se realizan las lecturas, por duplicado, en una cámara cuantaglobulos. Se procede a calcular el porcentaje de células libres, en cada dilución, comparado con el control y este valor, restado de 100, nos da el respectivo porcentaje de aglutinación. Una vez que se han obtenido todos los valores se procede a graficar en un papel semilogarítmico utilizando el próbito del porcentaje de aglutinación (2) contra el logaritmo de la concentración del suero (1/dilución) con lo que obtenemos una línea recta. El punto donde la línea intercepta el próbito 5.0 corresponde a la dilución del suero que aglutina al 50% de los eritrocitos, lo que equivale a una unidad o dosis hemaglutinante 50% (DH_{50}) y que nos indica a su vez el número de

DH_{50} que tiene el suero sin diluir. Por último, dividimos las DH_{50} obtenidas con las células a investigar (A_1B) entre las DH_{50} de las células de referencia (A_1) y multiplicamos por 100 para obtener el porcentaje de aglutinación de las células incógnita con respecto a las de referencia. Cuanto menor sea ese porcentaje mayor ha sido el efecto depresivo que ha sufrido el antígeno A en los hematies AB. Con el primer lote de suero anti A se utilizaron las diluciones 1/200, 1/300 y 1/400 para las células A_1B y de 1/500, 1/600 y 1/700 para las A_1 . Con el segundo lote se utilizaron las mismas diluciones para los eritrocitos A_1B y de 1/300, 1/500 y 1/600 para las A_1 . Las lecturas de cada dilución se promediaron para graficar solo una curva para cada lote y para cada tipo de célula.

RESULTADOS

En el cuadro 1 podemos apreciar el porcentaje promedio de aglutinación y el respectivo próbito que se produce en cada una de las diluciones hechas, con cada uno de los sueros y células utilizadas. Se indica también aquella dilución que produce un 50% de aglutinación (DH_{50}), valor que se deriva de graficar los resultados indicados y el porcentaje de aglutinación que tienen los hematies A_1B en relación con los A_1 . Del valor de la DH_{50} se deriva el número de DH_{50} que tiene el suero sin diluir y la cantidad de este suero que contiene 1 DH_{50} . Así el suero 1 con eritrocitos A_1 tiene 564 DH_{50}/ml y una 1 DH_{50} equivale a 0.00176 ml del mismo. Mientras que con los hematies A_1B tiene apenas 351 DH_{50}/ml y 1 DH_{50} está contenida

en 0.00295 ml de él. El suero 2, con células A_1 , posee 549 DH_{50} y 1 DH_{50} es equivalente a 0.00182 ml y con eritrocitos A_1B contiene 272 DH_{50} y 1 DH_{50} es igual a 0.00367 ml de este suero.

DISCUSIÓN

La relación A_1B/A_1 nos da una medición de la pérdida de aglutinabilidad o depresión sufrida por el antígeno cuando está junto al antígeno B en los eritrocitos A_1B . Los resultados obtenidos nos confirman una depresión alélica importante en la población de Costa Rica. Una competencia enzimática por el sustrato H es una posible explicación que se le ha dado a este fenómeno (8). Los valores encontrados, con ambos lotes de suero anti A, son consistentes y reflejan una depresión del antígeno A entre un 36 y un 50%. Estos hallazgos contrastan con los de Gibbs-Akeroyd (6) quienes con un grupo pequeño de eritrocitos A_1 y A_1B encontraron una pequeña depresión del antígeno A de un 27% mientras que con un segundo grupo de apenas 8 sangres A_1 , comparadas con los eritrocitos A_1B del primer grupo, detectaron un efecto contrario de un 16%. Los resultados obtenidos nos indican que la depresión alélica en los eritrocitos AB es un fenómeno frecuente aunque no llegue al grado de cambiar el fenotipo de un subgrupo a otro más débil (3).

RESUMEN

Se midió la reactividad del antígeno A_1 en dos grupos de hematies A_1 y A_1B mediante la técnica de aglutinación cuantitativa. Para ello se utilizó

CUADRO 1

**PORCENTAJE DE AGLUTINACION, PROBITOS Y DH₅₀
DEL SUERO ANTI A CON ERITROCITOS A₁ y A₁B**

GRUPO	SUERO	DILUCIONES: % PROBITO			DH ₅₀	A ₁ B/A ₁ (%)
A ₁	1	1/500:58%/5.4	1/600:47%/4.9	1/700:31%/4.5	1/578	62%
A ₁ B	1	1/200:72%/5.5	1/300:57%/5.2	1/400:45%/4.9	1/357	
A ₁	2	1/300:73%/5.6	1/500:53%/5.1	1/600:46%/4.9	1/549	50%
A ₁ B	2	1/200:61%/5.3	1/300:46%/4.9	1/400:34%/4.6	1/272	

los tipos de suero anti A con títulos de 1/2048 y 1/512. Se encontró una DH₅₀ de 1/568 y 1/549, para los eritrocitos grupo A₁ y una DH₅₀ de 1/351 y 1/276 para los grupos A₁B. Esto nos indica una depresión del antígeno A₁, en el grupo A₁B, de un 38% y un 50%, respectivamente.

BIBLIOGRAFIA

- 1) American Association of Blood Banks. Technical Manual. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, USA. 8ed., 1981; 110-112.
- 2) Boyd William C. Fundamentals of Immunology. Interscience Publishers, Inc. New York, USA. 3 ed., 1956;705.
- 3) Cartron, J.P., Gerbal, A., Hughes-Jones, K.C. and Salmon, C. Relationship Between Red Cell Agglutinability and Antigen Site Density. Immunology 1974; 27: 723-727.
- 4) Gibbs, M.B. and Akeroyd, J.H. Quantitative Immunohematologic studies of Hemagglutination. II Assay of the Agglutinin A. J. Imm. 1958; 82: 577-584.
- 5) Gibbs, M.B. and Akeroyd, J.H. Quantitative Immunohematologic studies of Hemagglutination. I. Assay of the Isoagglutinin A. J. Imm. 1958; 82: 568-576.
- 6) Marín Rojas, R.A. Primer informe de casos de depresión alélica en la población AB de Costa Rica. Rev. Cost. Cienc. Méd. 1985; 6 (4): 233-234.
- 7) Marín Rojas, R.A. Efecto depresivo del gen B sobre el gen A en la población costarricense del grupo AB. Rev. Cost. Cienc. Méd. 1985; 6(4): 235-236.
- 8) Salmon, Ch. and Cartron, J.P. Interaction in AB Heterozygotes. IN: CRC Handbook series in Clinical Laboratory Science. Blood Banking. CRC Press, Inc, Inc., USA. 1977; Vol.1: 131-138.
- 9) Salmon, Ch., López, M., Cartron, J.P. and Bouguerra, A. Quantitative and Thermodynamic Studies of Erythrocytic ABO Antigens. Transfusion 1976; 16 (6): 580-593.
- 10) Solomon, J.M. Comparison of Fetal and Adult ABH Antigens by the Quantitative Hemagglutination. Technic. Transfusion. 1963; 3: 185-191.
- 11) Solomon, J.M., Gibbs, M.B. and Bowdler, A.J. Methods in Quantitative Hemagglutination, Part I. Vox Sang. 1965; 10: 54-72.
- 12) Solomon, J.M.; Gibbs, M.B. and Bowdler, A.J. Methods in Quantitative Hemagglutination, Part II. Vox Sang. 1965; 10: 133-148.
- 13) Wilke, M.H. and Becker, E.L. Quantitative Studies in Hemagglutination. J. Imm. 1955; 74: 192-204.