

IVAN DE LUCENA ANGULO

ANTICORPOS ANTIERITROCITÁRIOS: PREVALÊNCIA E
ESPECIFICIDADE EM TRANSPLANTADOS RENAIIS, DOADORES DE
SANGUE E PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de São
José do Rio Preto para obtenção do título de Doutor
em Medicina.

Orientador:
Prof. Dr. Édimo Garcia de Lima

1997

Para
Regina, Ivan, Fernando e Sérgio

À memória de Yolanda, Antonio, Galdós e
Cervantes Angulo.

Aos amigos Antonio Ricardo Toledo Gagliardi, Rubens Fecuri Júnior, Teresa
Cristina Bortolheiro e Dimas Tadeu Covas

Agradecimentos

Sandra Regina Soares Ayzawa; Isabel Cristina Tavares Borges, Vera Maria Rossi Toscano Martins, Sirlei Marques e Ana Cristina Carneiro Vilanova Vidal (Hemonúcleo, São José do Rio Preto); Dra. Cristina Salgueiro (Instituto de Urologia e Nefrologia, São José do Rio Preto); Prof. Luiz Carlos de Mattos (Famerp, São José do Rio Preto); Márcia Zaquerone e Dr. Jacob Rosenblit (Biotest S/A, São Paulo); Ana Maria Gonçalves (Famerp, São José do Rio Preto) e Rosemary Conceição dos Santos (Fundherp, Ribeirão Preto), Prof^a. Dr^a. Lilian Maria de Castilho (Unicamp) e Dr. Laércio de Mello (Diamed Brasil)

Homenagem

Prof. Dr. Édimo Garcia de Lima pela confiança, filosofia e sabedoria.

ÍNDICE ANALÍTICO

INTRODUÇÃO	11
ANTÍGENOS DE GRUPOS SANGUÍNEOS HUMANOS	13
Aspectos imunológicos e bioquímicos	13
Aspectos genéticos e moleculares	16
Aspectos funcionais e susceptibilidade a doenças	35
Anticorpos antieritrocitários	42
OBJETIVOS	55
CASUÍSTICA E METODOLOGIA	56
RESULTADOS	60
DISCUSSÃO	67
RESUMO	77
SUMMARY	79
CONCLUSÕES	80
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
ERRATA	95
RENAL FAILURE	96

ABREVIATURAS

ADCC	Citotoxicidade celular anticorpo dependente
AE1	"Anion exchanger-1"
AET	Brometo de 2-aminoetilisotiouranio
AGH	Antiglobulina humana
AHAI	Anemia hemolítica auto-imune
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
AnWj	Antígeno Anton
A_{mos}, B_{mos}	Mosaicos de antígenos A e B
AQP1	Aquaporina-1
B	Linfócito Timo-independente
B-CAM	Molécula de adesão de células B ao antígeno do câncer epitelial
Bg	Antígeno HLA eritrocitário
C1q	Componente do complemento
C3b	Componente do complemento
C4	Componente do complemento
C4b	Componente do complemento
Cad, Rx, Sd^a, Vel	Antígenos de alta frequência

CALLA	Antígeno comum da leucemia linfoblástica
CD2	Molécula de adesão de células T
CD4	Molécula de adesão ligante de HLA Classe I
CD8	Molécula de adesão ligante de HLA Classe II
CD44	Receptor para componentes da matriz extracelular
cDNA	DNA complementar
CR1	Receptor de complemento
Cr⁵¹	Cromo 51
CRF	“Chronic renal failure.”
C^x	Antígeno raro do sistema Rh
DHPN	Doença hemolítica perinatal
DNA	Ácido desoxiribonucleico
Duclos	Antígeno de alta incidência
2-ME	2-mercaptoetilamina
DP	Desvio-padrão
DTT	Ditioneitol
EBV	Vírus de Epstein-Barr
EGF	"Epidermal growth factor"
En(a-)	Fenótipo com GPA ausente ou alterada
f	Antígeno do sistema Rh, composto (ce)
Fuc	Fucose
Gal	D-galactose

Gal N Ac	N-acetil-D-galactosamina
GDP	Guanina difosfato
GPA	Glicoforina-A
GPB	Glicoforina-B
GPC	Glicoforina-C
GPD	Glicoforina-D
GPE	Glicoforina-E
GPI	Glicosil-fosfatidil-inositol
HEMPAS	Multinuclearidade eritroblástica hereditária com teste do soro acidificado positivo
HLA	Complexo maior de histocompatibilidade
I, i	Antígenos de coleção
IAM, ICAM	Molécula de adesão intercelular
ICAM-1	Molécula de adesão ligante de LFA-1
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
<i>In (Jk)</i>	Gen inibidor sistema Kidd
<i>In (Lu)</i>	Gen inibidor sistema Lutheran
ISBT	Sociedade Internacional de Transfusão de Sangue
kD	kilo-Dalton
LFA-1	Molécula de adesão, ligante do ICAM-1
LFA-3	Molécula de adesão ligante do CD2

Lu	Gen amorfo do sistema Lutheran
MCP-1	Proteína-1 quimiotática de monócitos
MGSA	Atividade estimuladora de crescimento de melanomas
M^K	Fenótipo deficiente de GPA e B do sistema MN
N-CAM	Molécula de adesão de neurônios
NeuNAc	Ácido N-acetil-neuramínico ou ácido siálico
Oh	Fenótipo Bombay do sistema ABO
p	Fenótipo "null" do sistema P
PCR	Reação em cadeia da polimerase
P^K	Antígeno de coleção; precursor do antígeno P1
RANTES	Proteínas "reguladas em ativação, expressas e secretadas por células T normais"
RFLP	Fragments do polimorfismo por restrição
Rh_{mos}	Mosaico de antígenos Rh
RTH	Reação transfusional hemolítica
SCR	"Short-consensus repeats"
T	Linfócito Timo-dependente
TAGD	Teste da antiglobulina Direto (Coombs Direto)
TAGI	Teste da antiglobulina Indireto (Coombs Indireto)
Tn, T, Tk	Antígenos crípticos
UDP	Uridina difosfato
V^W	Antígeno V ^W

X^0r	Gen amorfo do sistema Rh
X^0	Gen regulador sistema Rh
XS^2	Gen supressor do sistema Lutheran

SISTEMAS DE GRUPOS SANGUÍNEOS ISBT COM GENS E ANTÍGENOS CITADOS

Nome	Símbolo	Gens	Antígenos
ABO	ABO	<i>ABO</i>	A1, A1B, A2, A2B, B, O
MNS	MNS	<i>GYPA, GYPB, GYPE</i>	M, N, S, s, U, N-"like", Nf
P	P1	<i>P1</i>	P, P1, P2, Pr
Rh	RH	<i>RHD, RHCE</i>	D, C, c, E, e, C ^w , C ^x , f
Lutheran	LU	<i>LU</i>	Lu ^a , Lu ^b , Lu3
Kell	KEL	<i>KEL</i>	K, k, Kp ^a , Kp ^b , Js ^a , Js ^b
Lewis	LE	<i>FUT3</i>	Le ^a , Le ^b , Le ^{bH} , Le ^x
Duffy	FY	<i>FY</i>	Fy ^a , Fy ^b , Fy3 Fy5, , Fy6
Kidd	JK	<i>JK</i>	Jk ^a , Jk ^b
Yt	YT	<i>ACHE</i>	Yt ^a
Nome	Símbolo	Gens	Antígenos
Diego	DI	<i>AE1</i>	Di ^a , Di ^b , Wr ^a ,

			W _r ^b
Xg	XG	<i>XG</i>	Xg
Scianna	SC	<i>SC</i>	
Dombrock	DO	<i>DO</i>	
Colton	CO	<i>AQP1</i>	
Landsteiner- Wiener	LW	<i>LW</i>	LW
Chido/Rodgers	CH/RG	<i>C4A, C4B</i>	
Hh	H	<i>FUT1</i>	H, h
Kx	XK	<i>XK</i>	Kx
Gerbich	GE	<i>GYPC</i>	An ^a
Cromer	CROM	<i>DAF</i>	
Knops	KN	<i>CRI</i>	
Indian	IN	<i>CD44</i>	

INTRODUÇÃO

Antígenos eritrocitários são estruturas presentes na membrana com a capacidade de induzir a produção de anticorpos específicos e de ligar-se aos mesmos. As pessoas que desenvolvem estes anticorpos geralmente não possuem o determinado antígeno em seus eritrócitos.

Fenótipo é a descrição dos antígenos presentes nos eritrócitos descobertos pela utilização de vários anticorpos (ISSIT, 1995).

A **membrana eritrocitária** é uma estrutura organizada, composta de moléculas de lipídeos e proteínas, que serve de fronteira entre os meios interno e externo. Possui três componentes: uma camada bilipídica, proteínas da membrana e proteínas do citoesqueleto. A camada bilipídica é composta de fosfolípides (60%), colesterol (30%) e glicolípides (10%) e assimétrica devido à maior quantidade de fosfatidilserina internamente, graças à ação da enzima flipase. A metade externa é hidrofílica e a interna hidrofóbica, ligando-se às proteínas do citoesqueleto (ISSIT, 1985; SMITH & AGRE, 1988; MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993).

As proteínas da membrana são a banda 3, as glicoforinas e as proteínas de determinados grupos sanguíneos, como o sistema Rh. Possuem uma porção extracelular, uma porção transmembrana e uma citoplasmática que faz contato

com o citoesqueleto. A banda 3 liga-se às proteínas 2.1 e 4.2, a glicoforina B às proteínas 4.1 e actina e o antígeno D do sistema Rh a um ponto do citoesqueleto ainda não identificado. As proteínas da membrana agem como transportadoras de anions (bicarbonato, sódio e cálcio) e da glicose. Podem ter uma única ou múltiplas passagens através da membrana e podem ligar-se à estrutura denominada glicosil-fosfatidil-inositol ou GPI que, por sua vez, liga-se ao retículo endoplasmático (REID, 1995a; TELEN, 1995b).

Sistemas de grupos sanguíneos humanos: as diferenças interespecies dos antígenos eritrocitários foram reconhecidas em 1875, e as intra-espécie humana em 1900, (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993). Os primeiros antígenos descobertos reagem com seus anticorpos em meio salino: ABO, descritos em 1901; MNP, 1927; LW, 1930; Rhesus, 1939-1940; Lutheran, 1945, e Lewis, 1946. A introdução da antiglobulina humana - AGH - (COOMBS, MOURANT & RACE, 1945) possibilitou a descoberta de outros que não reagem em meio salino: alguns Rh, 1945; Kell, 1946; Duffy, Kidd, Diego e Cartwright, 1950-1956, e Xg, Dombrock e Colton, 1962-1967 (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993).

Numerosos outros antígenos foram descobertos após 1990 (ISSIT, 1995).

Os antígenos de grupos sanguíneos humanos são classificados em quatro categorias:

- **Sistemas:** um ou mais antígenos controlados por um único *locus* ou antígenos codificados por dois ou mais gens homólogos muito próximos e sem recombinação entre si ou antígenos geneticamente diferente dos de outros sistemas.
- **Coleções:** antígenos relacionados sorológica, bioquímica ou geneticamente mas que não preenchem os critérios acima.
- **Baixa incidência:** não podem ser incluídos nas duas categorias anteriores; raramente encontrados.
- **Alta incidência:** mesma definição anterior mas frequentemente encontrados.

Até o presente foram descritos 23 sistemas de grupos sanguíneos contendo 195 antígenos, sendo que os sistemas Gerbich, Cromer, Knops e Indian foram acrescentados após 1990, 5 coleções contendo 11 antígenos, 37 de baixa incidência (7 últimos após 1990) e 12 antígenos de alta incidência (o último após 1990), perfazendo total de 255 (ISSIT, 1985; ISSIT, 1995; REID, 1995b).

ANTÍGENOS DE GRUPOS SANGUÍNEOS HUMANOS

Aspectos imunológicos e bioquímicos.

Os fatores que afetam a capacidade de expressão dos antígenos são os seguintes:

1. o número de sítios antigênicos tem ampla variação por célula, oscilando de $2 - 6 \times 10^3$ para K, Le^a e Le^b até $1 - 2 \times 10^6$ no sistema ABH; a capacidade de agregação das glicoproteínas nos eritrócitos intactos é pequena devido ao fato de estarem ligadas ao citoesqueleto (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993);
2. a ontogenia, pois, ao nascer, estão ausentes os antígenos I, Sd^a , Le^a e Le^b , possuindo ainda expressão fraca ABH, P1, Le^a , Le^b , Yt^a , Xg e Vel, expressando-se totalmente somente aos dois anos de idade os ABH, I e Lewis e, aos sete anos, P1 e Lutheran;
3. a homozigose, uma vez que tem dose maior de antígeno que heterozigose, porém em D, Le^a , Le^b e Duffy este efeito é menos notado;
4. a interação gênica, já que os sistemas Rh, Kell e Lutheran são herdados através de haplótipos (CD inibe D em *trans* e Kp^a suprime k e Js^b , em *cis*);

5. a presença de gens inibidores, ou seja, *In (Lu)* inibe Lutheran, P1 e i, *In (Jk)* o Jk^a e Jk^b e X^0r os do sistema Rh e, finalmente,

6. a imunogenicidade (ABBAS, LICHTMAN & POBER, 1994), pois a capacidade de induzir a resposta imunológica é avaliada pelo número de sítios antigênicos e pela frequência dos anticorpos específicos *versus* frequência de imunização, sendo o antígeno D mais imunogênico, seguido do K, c, E, Fy^a e Jk^a (CALHOUN & PETZ, 1995).

Os epítomos são compostos de 4 a 5 aminoácidos ou de 1 a 7 resíduos de açúcar. Os açúcares são a D-galactose (Gal), N-acetil-galactosamina (GalNAc), N-acetil-D-glicosamina (GlcNAc), L-fucose (Fuc), ácido N-acetil-neuramínico (NeuNAc) ou ácido siálico e D-manose. O açúcar imunodominante dos antígenos A e P é a GalNAc; de B, P1 e P^k é Gal e de H, Le^a e Le^b , Fuc. Quando compostos por glicoproteínas, encontram-se presentes nas secreções corporais; quando glicoesfingolípides, no plasma. Ambos os tipos estão presentes na membrana do eritrócito. Sistema ABH e Lewis são compostos por cadeias de oligossacarídeos ligados a proteínas (glicoproteínas) ou ao ceramídeo (glicoesfingolípides). São sintetizados passo a passo pelas glicosiltransferases (BECK, 1995). As glicoproteínas são as mais importantes, sendo que as cadeias de oligossacarídeos podem ligar-se por N-glicosilação (N-glicans) ou O-glicosilação (O-glicans). As primeiras são bastante ramificadas, sendo que a N-acetil-glicosamina liga-se ao nitrogênio amida da Asparagina; as segundas

podem ser cadeias simples ou complexas, sendo que a N-acetil-glicosamina liga-se ao oxigênio da Serina ou Treonina. As proteínas da membrana que fazem parte destes antígenos são a banda 3 (canal de ânions) e a banda 4.5 (canal de glicose). Os antígenos Lewis são adsorvidos do plasma, portanto não estão presentes nas glicoproteínas. Estes antígenos foram estudados em líquidos corporais principalmente no de cisto de ovário do ser humano, onde existem em grandes quantidades (DANIELS, 1995a). Os antígenos I/i são açúcares ligados às cadeias de oligosacarídeos ABH.

Os antígenos proteicos podem ser glicosilados (MNSs, Kell, Duffy e Lutheran) e não glicosilados (Rh e Kidd). Os antígenos D, Cc e Ee são polipeptídeos de cadeias diferentes. O uso de enzimas ou de substâncias químicas pode exacerbar, reduzir ou eventualmente não afetar determinados antígenos. O uso destas substâncias é importante na identificação sorológica. As enzimas ficina, papaína e bromelina exacerbam os antígenos ABH, I, P, Lewis, Rh e Kidd; reduzem MN, Duffy e Ss (este último em altas doses); não afetam Kell e Lutheran. Os redutores de pontes -S-S- 2-mercaptoetilamina (2-ME) e ditionitrito (DTT) reduzem Kell, não afetando Kx; brometo de 2-amino-etil-isotiouranio (AET) reduz Lutheran (CALHOUN & PETZ, 1995). A expressão de H, A e B depende da presença de monossacarídeos específicos adicionados a cadeias precursoras ou estruturas "core" periféricas. Existem 6 precursores (tipos 1 a 6), variações de poli-N-acetil-lactosamina (DANIELS, 1995a).

Aspectos genéticos e moleculares.

Os gens de 22 dos 23 grupos sanguíneos já foram identificados (ZELINSKI, 1995; DANIELS, 1995a). Os gens responsáveis pelos antígenos de grupos sanguíneos humanos são autossômicos exceto *Xg* e *Xk* que são ligados ao sexo (cromossoma X). Possuem dois ou mais alelos que podem ser idênticos (homozigotos produzem somente um antígeno) ou diferentes (heterozigotos produzem dois antígenos). Estes gens podem sofrer mutações ou deleções de pares de bases de seu DNA. Os alelos são responsáveis pelo aparecimento de subgrupos de antígenos. Complexos gênicos são formados por vários *loci* muito próximos, formando haplótipos onde ocorre pouco ou nenhum “crossing over” como, por exemplo, os sistemas Rh e MNSs. Alelos silenciosos não produzem antígeno, formando os fenótipos "null" homozigotos, como OO, Fy (a-b-) e Le (a-b-), presentes em quase todos os sistemas de grupos sanguíneos humanos. Antígenos de grupos sanguíneos humanos estão presentes em vários tecidos, não somente nos eritrócitos: endotélio capilar renal (Ss e Lutheran); hepatócitos (MNSs e Lutheran); vários tecidos (ABH); granulócitos (I); plaquetas e linfócitos (ABH, Lewis, I, P) e também em secreções corporais (ABH, I, Lewis e Sd^a) (CALHOUN & PETZ, 1995). Podem ser proteínas (produtos gênicos diretos) ou carboidratos (indiretos, através de transferases). Os antígenos HLA

B7, B17 e A28 estão representados nos eritrócitos como Bg^a, Bg^b e Bg^c (WALKER, 1993).

O estudo da frequência dos gens e fenótipos tem importância não só em Medicina Transfusional (obtenção de sangue compatível, prevenção da doença hemolítica perinatal - DHPN) mas também em exclusão de paternidade, medicina forense, antropologia e genética (WALKER, 1993). Outras possibilidades abertas pelo estudo dos polimorfismos referem-se à sobrevivência dos eritrócitos após transfusão, susceptibilidade ou resistência a determinadas doenças pela presença ou ausência de determinados antígenos em *loci* próximos assim como previsão da herança de doenças causadas por gens próximos aos antígenos (REID, 1995a).

A persistência dos gens de grupos sanguíneos na evolução sugere que os antígenos estão localizados em estruturas de alta importância biológica (REID, 1995a). Os antígenos são utilizados para se estudar, em nível molecular, os polimorfismos e as anomalias de herança. Estudos de biologia molecular e imunológica revelaram detalhes sobre a estrutura e função dos componentes que representam os antígenos, assim como anomalias genéticas resultantes de rearranjos gênicos que servirão de modelo para investigação de outros sistemas (REID, 1995a).

O *locus FUT1 (H)*, localizado no cromossoma 19q13.3, é ocupado pelo gen *H* que produz uma α -2-L-fucosiltransferase que atua no retículo

endoplasmático e aparelho de Golgi, fazendo a ligação da fucose ao carbono 2 da galactose terminal das cadeias precursoras 2, 3 ou 4, através do guanina difosfato (GDP). É proteína de 365 aminoácidos com ação catalítica no domínio C-terminal. Seu alelo *h*, devido à substituição do nucleotídeo 948 (C → G), a qual cria um "codon stop" correspondente ao aminoácido 316 (Tyr → stop) , não produz enzima funcional. Foi clonado (DANIELS, 1995a), utilizando-se DNA de ser humano transfectado em células de camundongo que passaram a expressar o antígeno H. Este foi ligado a anticorpos monoclonais anti-H e o DNA destas células novamente transfectado, sendo então submetido à técnica de RFLP (fragmentos de polimorfismo por restrição) com a enzima EcoRI; os fragmentos presentes no DNA de todas as células foram utilizados como "probe" em uma "biblioteca" de cDNA humano, possibilitando assim o isolamento, a clonagem e a sequenciação do gen e sua expressão em células de macacos COS-1 (DANIELS, 1995a). Através do "Southern Blot" localizou-se o *locus* no cromossoma 19. Praticamente todas as pessoas possuem o antígeno H nos eritrócitos (DANIELS, 1995a).

O *locus FUT2 (SE)* próximo ao *FUT1* em 19q13.3 é ocupado pelos gens *Se* e *se*. Codifica uma α -2-fucosiltransferase de 332 aminoácidos e elevada homologia com o produto do *FUT1*, diferindo da anterior na preferência pela cadeia precursora de tipo 1. Ambas transferases possuem características

fisicoquímicas diferentes (DANIELS, 1995a). Utilizando-se fucosiltransferase extraída de mucosa gástrica de pessoas do grupo O secretor conjuntamente com o doador GDP-fucose, é possível transformar-se *in vitro* eritrócitos Bombay (sem o antígeno H) em H ativos (DANIELS, 1995a). *Loci FUT1 e FUT2* possuem intenso desequilíbrio de ligação (WALKER, 1993).

O *locus ABO*, localizados no cromossoma 9q34.1-q34.2 é ocupado por 3 alelos, *A*, *B* e *O*. *A* codificada pelo alelo *A* (α -3-N-acetil-galactosaminiltransferase) adiciona N-acetil-galactosamina ao resíduo galactosil fucosilado do antígeno H usando uridina difosfato (UDP) como doador de monossacarídeo. *A* codificada pelo gen *B* (α -3-D-galactosiltransferase) que liga a galactose fucosilada do H utilizando o UDP-galactose como doador. O gen, devido à deleção de uma guanina na posição 261, não produz enzima funcional (YAMAMOTO *et alii*, 1990). Conseguiu-se a clonagem do gen utilizando oligonucleotídeo sintético baseado em sequência parcial de aminoácidos de A-transferase purificada de pulmão e estômago. cDNAs de *A* e *B* diferem em 7 nucleotídeos responsáveis por substituições de 4 aminoácidos nas posições 176, 235, 266 e 268: Arg-Gli-Leu-Gli (transferase *A*) e Gli-Ser-Met-Ala (transferase *B*) respectivamente (YAMAMOTO *et alii*, 1990). O produto gênico tem 353 aminoácidos. O gen *O* é igual a *A* com deleção de um nucleotídeo que produz um “stop codon” o que resulta em uma proteína não funcional. 2% das pessoas

possuem o gen *O* igual ao *B* e pressupõe-se haver muitos outros alelos. cDNA de *A* ou *B* transfetado em células portadoras do antígeno H adquiriu os fenótipos *A* e *B*. cDNA de *A* e *B* transfetados às mesmas células produziram quimeras, ou seja, enzimas com atividade de *A* e *B* transferases. Os gens *ABO* têm 7 exons bem conservados na evolução. Têm 95% de homologia com primatas e hibridizam-se com DNA genômico de outros animais. Antígeno *B* adquirido tem sido descrito quase sempre associado a doenças do tubo digestivo, a maioria carcinoma de intestino grosso. Os pacientes não possuíam *B*-transferase e RFLP não evidenciou gen *B* em seus genomas (DANIELS, 1995a; BECK, 1995). Em 1911 foram descritos os antígenos *A1* e *A2* como expressão fraca de *A*, chamados subgrupos. No subgrupo *A2* reação em cadeia da polimerase (PCR) envolvendo o gen *ABO* revelou deleção de uma base no DNA, o que ocasiona a perda do “stop codon”, adicionando uma sequência extra de 21 aminoácidos ao C-terminal. Com os subgrupos eleva-se a 6 os fenótipos do sistema *ABO* (*A1*, *A2*, *B*, *A1B*, *A2B*, *O*). Existem diferenças quantitativas (número de sítios antigênicos) e qualitativas provadas para os antígenos *A1* e *A2*. Mutação no *locus* *ABO* causa o fenômeno *cis-AB*, isto é, antígenos *A* e *B* fracos com dupla população eritrocitária na aglutinação, H exacerbado e anticorpo anti-*B*. Muitos outros fenótipos de fraca expressão de *A* e *B* foram encontrados e estudados detalhadamente pela biologia molecular (OGASAWARA *et alii*, 1996). Portanto sem antígeno H não se produz *A* ou *B*. H pode estar ausente nos eritrócitos

(fenótipo Bombay) ou nas secreções (não secretores se/se). A-transferase isolada de mucosa gástrica transforma células O ou B em A utilizando UDP-N-acetilgalactosamina, e B-transferase de mucosa gástrica, soro, leite e saliva, transforma células O em B utilizando UDP-galactose. a conversão B → O foi conseguida utilizando α -galactosidase recombinante originalmente isolada de grãos de café verde (ZHU *et alii*, 1996).

Os fenótipos Lewis foram estabelecidos em 1948. Le (a+b-) é ABH não secretor; Le (a-b+), ABH secretor e Le (a-b-), ABH secretor ou não secretor. Os gens *Le* (são 2 alelos em 19p13.3 sendo *le* silente) produzem α -4-L-fucosiltransferase no locus *FUT3* que insere GDP-fucose na N-acetilglicosamina de várias cadeias precursoras: na de tipo 1 produzindo Le^a, na 1H produzindo Le^b e na 1A e 1B produzindo ALe^b e BLe^b respectivamente. O genótipo *lele* produz o fenótipo Le (a-b-). O genótipo *sese* não tem cadeia precursora 1H, somente de tipo 1, portanto é Le^a nas secreções e Le (a+b-) nos eritrócitos. A presença ou não dos antígenos Le^a ou Le^b nas secreções, plasma e eritrócitos depende portanto da interação dos gens *FUT3*, *FUT2* e loci ABO. O genótipo *SeSe/Sese* produz cadeia precursora tipo 1H, sendo portanto Le^b ou ALe^b/BLe^b conforme seja A ou B. Pelo processo de transferência gênica semelhante ao H, o cDNA do gen *Le* produz uma proteína de 361 aminoácidos, ou seja, uma α -3/4-fucosiltransferase. O fenótipo Le (a-b-) possui base genética

heterogênea: ocorre defeito estrutural no le, alterando as bases e a sequência de aminoácidos na região catalítica da enzima ou então na porção transmembrana, afetando a sua ancoragem no aparelho de Golgi. Antígenos Lewis podem ser adquiridos durante a gravidez desaparecendo após o parto, porém o fenótipo Le (a-b-) tem alta incidência em parturientes, que podem desenvolver anticorpos anti-Lewis. Esta diferença de expressão não parece estar relacionada à quantidade de antígenos no plasma. Oligossacarídeos Le^b em mulheres Le (a-b+) são excretados na urina e no leite materno em grandes quantidades, retornando ao normal após o término da lactação (DANIELS, 1995a).

As sialoglicoproteínas ou glicoforinas são glicoproteínas da membrana altamente glicosiladas e ricas em ácido siálico ou N-acetil-neuramínico. A glicoforina A (GPA) abriga os antígenos M e N e a B (GPB) os S e s. O sistema possui 38 antígenos (REID, 1995b). São proteínas transmembrana com C-terminal citoplasmático possivelmente interagindo com o citoesqueleto e N-terminal externo. Ligados à cadeia polipeptídica existem O-e N-glicans, sendo que a maioria do ácido siálico está nos O-glicans. Existem como monômeros, dímeros ou heterodímeros (DANIELS, 1995a). Foram sintetizados oligonucleotídeos correspondentes à região C-terminal da GPA, como "prime" para obter GPACDNA em uma biblioteca de DNA de células K562. O gen tem 40 kb e 7 exons em 4q28-q31 (ZELINSKI, 1995). O mesmo foi feito para a GPB, encontrando 5 exons. O terceiro exon é responsável pelo polimorfismo Ss.

Um terceiro gen associado é responsável pela síntese de GPE, existindo entre eles 90% de homologia, estando localizados no cromossoma 4. GPA com os aminoácidos Serina na posição 1 e Glicina na 5 expressa o fenótipo M+N-; com Leucina na posição 1 e Ácido Glutâmico na 5, M-N+; havendo ambas na membrana, M+N+. A GPB expressa S ou s contendo Metionina ou Treonina na posição 29, respectivamente (DANIELS, 1995a). O antígeno U, de alta frequência, expressa-se nos resíduos de aminoácidos 33-39 da GPB. O fenótipo S-s-U+ é virtualmente exclusivo da raça negra. S-s- é devido à ausência de GPB, porém os estudos moleculares mostraram um gen intacto. Substituindo-se os 5 últimos aminoácidos da porção N-terminal da GPA e da GPB e variando sua glicosilação, encontramos antígenos variantes. Deficiência de GPA produz o fenótipo En (a-), de GPB, U-negativo e de ambas, M^KM^K (DANIELS, 1995a).

O sistema P foi descoberto em 1927 imunizando-se coelhos com eritrócitos humanos (DANIELS, 1995a). Atualmente, os antígenos P, P^k e LKE fazem parte da coleção 209, e os do sistema, P1, P2 e p. São glicoesfingolípides. Glicoproteína derivada de cisto hidático possui um trissacarídeo que lhe dá especificidade P1. O sistema P possui 7 fenótipos, havendo dois gens presentes no cromossoma 22 responsáveis pela síntese de duas glicosiltransferases. O gen *P1* em 22q11.2-qter (ZELINSKI, 1995) possui 3 alelos (*P1*, *P^k* e *p*) produz α -4-galactosiltransferase que adiciona galactose ao paraglobosídeo ou lacto-N-neotetraosilceramídeo, que também origina a cadeia precursora 2ABH. O gen *P*

produz a β -3-N-acetil-galactosaminiltransferase que adiciona N-acetil-galactosamina ao antígeno P^k, produzindo o antígeno P ou globosídeo (globotetraosilceramídeo). Estes antígenos existem também nas células uroepiteliais. O gen *In (Lu)* inibe P1 apesar de não ser ligado ao locus. O antígeno de Forssman, heterófilo, descoberto em 1911, existe em eritrócitos de carneiro e de vários outros animais. Estes antígenos estão presentes nas células gastrointestinais e nos rins de 20 a 30% da população normal. É glicolípide derivado do globosídeo P (BAILLY & BOUHOURS, 1995).

Os gens Rh, que devem ter surgido por duplicação de gen ancestral comum, estão localizados no cromossoma 1p36.13-p34.3, responsáveis por 45 antígenos. O gen *RHD* produz o antígeno D e o *RHCE*, os polimorfismos Cc e Ee (CE,ce,Ce e cE). Os alelos são herdados como haplótipos e codificam proteínas hidrofóbicas com 12 passagens transmembrana. Não glicosiladas, são polipeptídeos diferentes, produtos de um mesmo gen, possuindo alta homologia. O antígeno D (ISSIT, 1995) foi isolado como uma proteína ligada a fosfolípidos, mais especificamente ao ácido palmítico. Há dúvidas se estão ligados ao citoesqueleto. Na sequência N-terminal, foram feitos isolamento e clonagem dos gens empregando-se PCR, gerando um produto contendo 417 aminoácidos. O cDNA foi transfectado a microsomas pancreáticos de cão e células de macacos COS-1, expressando esta proteína. A diferença entre os antígenos é de 35 aminoácidos. Ambos possuem porções N- e C-terminal intracitoplasmáticas com

6 domínios extracelulares. As pessoas Rh negativo (D-) não possuem o gen *RHD* (ARCE *et alii*, 1993). Os gens possuem 10 exons e 75 kb, sendo que o gen *RHD* diferencia-se do *RHCE* no intron 4 que provoca deleção de 600 pares de bases. Os antígenos Ee, por mutação no exon 5, são diferentes em um aminoácido na posição 226 (Alanina no e, Prolina no E). Cc por diferenças nos exons 4, 5 e 6 que insere nas posições 16, 60, 68 e 103 os aminoácidos Cisteína, Isoleucina, Serina e Serina (C) e Triptofano, Leucina, Aspartato e Prolina (c) (COLIN *et alii*, 1991; DANIELS, 1995a). Os polipetídeos Rh fazem parte de complexo macromolecular, do qual depende a imunogenicidade, possivelmente tetrâmeros compostos de 2 Rh e 2 glicoproteínas associadas, interagindo nos domínios N-terminais, assim como os antígenos associados à GPB (S,s,U), e também LW, Fy5 e outros. Fenótipos Rh-deficientes também o são para estas proteínas. O antígeno D é o mais imunogênico, portanto o mais importante clinicamente. Pessoas D- recebendo transfusão de eritrócitos D+ fazem anti-D em 80% dos casos. Até a introdução da profilaxia pela imunoglobulina anti-D, era o maior responsável por doença hemolítica perinatal. Sua expressão pode ser exacerbada (fenótipo D--) ou reduzida (D fraco). Quando C está presente, expressa-se menos D, pois os haplótipos DcE/DcE têm valores de titulação do antígeno maiores que DCe/DCe (DANIELS, 1995a).

Antígeno D^u é D reagente contra somente alguns anti-D, subdividindo-o em alto e baixo grau, o segundo reagindo somente com auxílio da antiglobulina

humana. O gen é recessivo em relação ao que produz o D, mas dominante sobre o Rh negativo. D e D^u não diferem qualitativamente, mas sim em relação ao número de sítios antigênicos. Com reagentes mais poderosos, células D^u foram reclassificadas como D normal. O termo mais apropriado é D fraco. Sua frequência depende da técnica e dos reagentes utilizados. Se usarmos dois soros anti-D potentes, a maioria das amostras será classificada como D normal e somente as muito fracas (D^u de baixo grau) serão rotuladas D negativo e receberão sangue Rh negativo. Sangue de doadores D negativos deverá ser examinado pela antiglobulina antes de ser transfundido em receptores com anti-D. A transfusão de D fraco em portadores de anti-D poderá resultar em reação transfusional hemolítica. Há vários exemplos de doença hemolítica perinatal (DHPN) em crianças D fraco de mães com anti-D. O antígeno D poderá estar enfraquecido em certas doenças mieloproliferativas e em anemias hemolíticas (DANIELS, 1995a).

Pessoas aparentemente D negativas possuem D demonstrável somente por técnicas de absorção/eluição (D_{el}). Este defeito, devido ao *RHD* possuir somente os exons 2 e 5, é encontrado em 30% dos chineses e 10% dos japoneses. O antígeno D é um mosaico de epítomos, e as pessoas que perderam parte dele produzirão anticorpos contra a porção ausente se transfundidas com o antígeno completo (D parcial). D fraco parcial é a denominação das deficiências quantitativas (D fraco) e qualitativas (D parcial). Utilizando-se anticorpos

monoclonais, foram descritos 9 epítomos. Não se conhece a imunogenicidade do D parcial. Utilizando-se RFLP e sequenciamento do cDNA evidenciou-se ausência dos exons 4,5 e 6 do *RHD*, ou substituição por exons do *RHCE* (DANIELS, 1995a).

Fenótipo D-- é a denominação da ausência dos antígenos C/c e E/e (HUANG, REID & CHEN, 1995). D está exacerbado com elevação do número de sítios antigênicos por célula. “Southern Blot” e PCR mostraram deleção de 85% do gen *RHCE*, porém em vários outros casos o gen estava normal (DANIELS, 1995a; ISSIT, 1995). Podemos também encontrar exacerbção do antígeno D em alguns complexos D (C) (e), no D parcial e em células deficientes de GPA.

Antígenos compostos CE são encontrados quando o gen se encontra em *cis*. C^w tem antígeno C mais fraco e já foram descritos c e e parciais. Rh "null" é raro e produto de alta consanguinidade. Em 1992, (DANIELS, 1995a) descreveu-se um caso em paciente brasileira. Não é encontrado em descendentes de africanos. Vários outros antígenos de outros sistemas de grupos sanguíneos estão deficientes no Rh “null”: LW, GPA e outros. Pode ser produzido por duas heranças genéticas: inibição por outro gen (“regulador”) ou gen silente ou amorfo (CHÉRIF-ZAHAR *et alii*, 1993). O gen regulador (X^0 , alelo X^l ,) não faz parte do complexo Rh, nem tem relação com o cromossoma X. Os gens Rh estão normais conforme evidenciados por RFLP. No tipo amorfo *RHCE* está normal e

RHD ausente. O antígeno D pode expressar-se muito fracamente modificado por gen (X^D) fora do complexo Rh (Rh_{mod}). Não tem relação com o cromossoma X. A RFLP mostra que *RHCE* e *RHD* estão normais. Acredita-se que as proteínas Rh sejam importantes na manutenção da assimetria dos fosfolípidos da membrana, causando aumento da permeabilidade aos cátions e água, assim como redução do colesterol (DANIELS, 1995a).

O sistema LW (Landsteiner-Wiener) é constituído por glicoproteínas isoladas e caracterizadas como produto do gen *LW* do cromossoma 19p13.2-cen (ZELINSKI, 1995). Expressam-se mais fortemente em células D+ e fazem parte do complexo de componentes da membrana associados aos polipeptídeos Rh. São duas as proteínas LW, uma transmembrana de 270 aminoácidos e outra não, de 236 resíduos. Pertencem à família das ICAMs (moléculas de adesão intercelular) que agem na inflamação e na resposta imunológica (ISSITT, 1995).

O sistema Lutheran (DANIELS, 1995b) possui 18 antígenos, representados em duas glicoproteínas. O gen *LU* está localizado no cromossoma 19q12-q13 (ZELINSKI, 1995) formando um grupo com os sistemas Secretor, Lewis, H e LW. Está organizado em 15 exons e mudança de um nucleotídeo no exon 6 provoca substituição de um aminoácido na posição 229 (His → Arg). Estudos com PCR mostraram que esta mutação está associada ao polimorfismo Lu^a / Lu^b , duas glicoproteínas relacionadas à superfamília das imunoglobulinas. A glicoproteína maior (85-kD) é virtualmente idêntica à molécula de adesão de

células B ao antígeno do câncer epitelial (B-CAM) (NEMER *et alii*, 1997). Seu fenótipo “null” é denominado Lu_{null} ou Lu (a-b-) e pode ser causado por gen amorfo recessivo (*Lu*), por supressor dominante *In (Lu)* ou ligado ao cromossoma X (*XS2*). Os antígenos possuem grande variação de intensidade e efeito dose, causando heterogeneidade entre os eritrócitos, levando a campo misto nas reações de aglutinação. Possuem fraca expressão na criança ao nascer, atingindo níveis de adulto somente aos 15 anos de idade. Estão presentes também no endotélio renal. O gen *In (Lu)* modifica (deprime) a expressão dos antígenos P1, i, CD44 e Knops. O isolamento da proteína levou à construção de oligonucleotídeo sintético que, por PCR, expressou cDNA em "biblioteca" de DNA de ser humano de placenta, gerando um produto de 597 aminoácidos da família das imunoglobulinas (Ig) com 7 domínios, 5 extracelulares, 1 de membrana e 1 citoplasmático (DANIELS, 1995a; DANIELS, 1995b). A superfamília das imunoglobulinas compreende, além do Lutheran, as cadeias H e L das Ig, antígenos de classe I e II do HLA, β_2 -microglobulina, moléculas de adesão de células T (CD2 e LFA-3), antígenos CD4 e CD8, receptores de Ig, molécula adesiva de neurônios (N-CAM) e o antígeno LW. Estas proteínas são construídas contendo unidades de homologia e os antígenos Lutheran possuem 5 destas unidades, 2 de porção variável (V) e 3 de porção constante (C).

Kell foi o primeiro sistema descoberto pelo uso da AGH, possuindo 21 antígenos (DANIELS, 1995a; DANIELS, 1995b). São glicoproteínas

transmembrana restritas aos eritrócitos. Os gens *KEL* e *K⁰* (amorfo) estão localizados no cromossoma 7q33 (ZELINSKI, 1995). *K⁰* expressa ausência de antígenos eritrocitários, mas não há deleção do gen *KEL*. Os antígenos poderão estar deprimidos no fenótipo McLeod (sistema Kx) e em alguns Gerbich negativos (ausência do exon 3 das glicoforinas C e D), assim como poderão, transitoriamente, reduzir sua expressão em certas doenças e depois voltar ao normal (REDMAN & MARSH, 1993). Isto foi descrito em anemia hemolítica auto-imune com desenvolvimento de anticorpos anti-Kp^b e púrpura trombocitopênica idiopática. A explicação para estes fatos seria a degradação transitória dos antígenos por enzimas de origem bacteriana. *KEL* tem 19 exons e o produto de amplificação utilizando PCR estabeleceu os pontos de mutações nos codons que promovem as trocas de aminoácidos responsáveis pelo polimorfismo. O antígeno K tem no exon 6 a troca do codon da base 698 (ACG → ATG) produzindo um proteína com metionina na posição 193 (RUSSO *et alii*, 1994; DANIELS, 1995b; LEE, 1997). O produto gênico tem 732 aminoácidos com uma porção N-terminal citoplasmática e uma C-terminal extracelular, N-glicosilada (LEE *et alii*, 1995a; LEE *et alii*, 1995b).

O síndrome de McLeod e a ocasional ligação com doentes portadores de doença granulomatosa crônica levaram à conclusão de que este fenótipo é ligado ao sexo (cromossoma X) e se deve à ausência de uma proteína de membrana denominada Kx (sistema Kx) produzida pelo gen *XK*. Usando DNA genômico

de pacientes com esta doença, com deleção do Xp21.1 (ZELINSKI, 1995), construiu-se fragmentos de DNA correspondentes à região deletada e pesquisou-se em "biblioteca" de DNA de ser humano,. Foi encontrado um gen de 3 exons (DANIELS, 1995a). Seu produto tem 444 aminoácidos com 10 domínios transmembrana, característica de proteínas de transporte.

Composto de 8 antígenos, Duffy (SOSLER, 1995) é glicoproteína N-glicosilada, produzida pelo gen *FY* no cromossoma 1q22-q23 (ZELINSKI, 1995). Os fenótipos mais comuns na raça branca são Fy (a+b-), Fy (a+b+) e Fy (a-b+); em negros, Fy (a-b-), produzido pelo gen silente *Fy*. Os antígenos Fy^a e Fy^b estão bem desenvolvidos na criança ao nascer. Vários outros tecidos possuem antígenos Duffy. Por meio da proteína construiu-se um oligonucleotídeo utilizado como "primer" em reações de PCR em "biblioteca" de cDNA de pessoas Fy (a-b+). O produto gênico é uma proteína de 337 aminoácidos com 7 ou 9 domínios transmembrana em α -hélice, N-terminal extracelular e C-terminal citoplasmático (DANIELS, 1995a). A substituição de uma base leva ao polimorfismo Fy^a/Fy^b, sendo que na posição 44 o aminoácido Glicina é trocado pela Asparagina. Fy (a-b-) surgiu por deleção de 14 pares de base que introduziu "stop codon". Este fenótipo é frequente em negros e confere resistência à infecção pelo *P. vivax*. A glicoproteína seria receptor dos merozoítas facilitador da invasão celular. O antígeno Fy^a é importante marcador antropológico, raro em negros e com alta incidência em europeus e asiáticos. Os

antígenos Duffy são receptores de quimiocinas (NEOTE *et alii*, 1994; SZABO *et alii*, 1995), isto é, relacionam-se com uma família de peptídeos quimiotáticos e pró-inflamatórios composta pela Interleucina-8 (IL-8), atividade estimulatória de crescimento de melanomas (MGSA), proteína-1 quimiotática de monócitos (MCP-1) e proteínas “reguladas em ativação, expressas e secretadas por células T normais” (RANTES). Fy3 em várias raças humanas é antígeno público sendo muito polimórfico em negros nos USA. A resposta imune a este antígeno (anti-Fy3) é diferente em negros ou outras raças: naqueles reage fracamente ou não reagem com eritrócitos de cordão umbelical.

Kidd possui 3 antígenos, Jk^a, Jk^b e Jk3 (SOSLER, 1995). Seu fenótipo “null” Jk (a-b-), comum em povos da Polinésia, confere à célula resistência à hemólise por soluções de uréia sugerindo serem proteínas transportadoras. Contadores de plaquetas que utilizam solução de uréia a 2M como agente hemolisante apontaram resultados falsamente elevados no fenótipo Jk (a-b-). As proteínas estão ausentes nas membranas o que torna o trânsito da uréia 1000 vezes mais lento. Este fenótipo pode ser recessivo ou dominante pela herança do gen *In (Jk)* que não está no mesmo locus. Utilizando "biblioteca" de cDNA em reticulócitos, localizou-se o gen do locus *JK* no cromossoma 18q11-q12 (ZELINSKI, 1995) produtor de Jk^a, proteína com domínio globular N-terminal, 5-6 porções intramembrana, C-terminal rico em Cisteína e N-terminal citoplasmático. Células transfectadas com este cDNA aumentam o transporte da

uréia. Foram descritos pacientes com o fenótipo Jk (a-b-) com defeito da concentração urinária (DANIELS, 1995a).

Diego possui 4 antígenos, Di^a/Di^b e Wr^a/Wr^b (REID, 1995b; JAROLIN, RUBIN & MOULDS, 1994). Di^a é raro em brancos e exclusivo de populações mongolóides, inclusive os índios sul-americanos (no Brasil os Kaiganges) (DANIELS, 1995a). Faz parte da proteína de membrana banda 3, sendo Di^a/Di^b resultantes da troca do aminoácido 854 (Leucina por Prolina) e Wr^a/Wr^b no aminoácido 658 (Lisina por Ácido Glutâmico). Não possui fenótipo “null”, mas células GPA-deficientes são Wr (a-b-) (BRUCE *et alii*, 1995). Estes antígenos são detectáveis na criança ao nascer. A banda 3 ou AE-1 (trocadora de ânions) é produzida pelo gen *AE1* no cromossoma 17q12-q21 (ZELINSKI, 1995), possuindo 20 exons (TANNER, 1993; HUANG *et alii*, 1996; SCHOFIELD *et alii*, 1994). A função desta glicoproteína é promover a troca de bicarbonato e cloro no transporte do CO_2 e ligar-se ao citoesqueleto. Possui domínio N-terminal citoplasmático contendo 403 aminoácidos, porção transmembrana de 479 aminoácidos e C-terminal de 29 aminoácidos. A porção N-terminal liga-se à Ancorina, proteína do citoesqueleto. É sede de N-glicans de antígenos H, A, B, I e i. A banda 3 e a GPA estão associadas na expressão do antígeno Wr^b pela ligação do Ácido Glutâmico da posição 658 da banda 3 com Arginina na posição 61 da GPA (DANIELS, 1995a).

Antígenos da coleção 207, I/i são carboidratos constituintes de glicolípides e glicoproteínas. Fazem parte das estruturas internas dos antígenos ABH. O antígeno i é cadeia linear de N-acetil-lactosamina, precursor do I por ramificação, catalizada por β -6-N-acetil-glucosaminiltransferase, produto do gen *I*, presente no cromossoma 9. Sua expressão é deprimida pelo gen *In* (*Lu*) e exacerbada na deficiência de Rh. Células de ovário de hamster chinês, que expressam o antígeno i, foram transfectadas com DNA de células de teratocarcinoma de ser humano, que expressam I. O cDNA evidenciou o gen com um exon, produtor de glicosiltransferase que possui baixa atividade no feto. Os antígenos estão presentes na superfície celular em todo o organismo e em vários líquidos corporais (DANIELS, 1995a).

Quimeras são organismos derivados de dois ou mais zigotos; mosaicos são organismos derivados de um único zigoto. Ambos apresentam populações eritrocitárias com antígenos diferentes. Em 1953 (DANIELS, 1995a) descreveu-se um paciente com 61% de eritrócitos do grupo O e 39% A1. Além de grupos sanguíneos, ocorrem quimeras com antígenos HLA e marcadores cromossômicos. Em reações de aglutinação de eritrócitos, campo misto é a regra. Mosaicos de A e B (A_{mos} e B_{mos}) foram descritos utilizando-se dois tipos de anticorpos que evidenciaram padrões de aglutinação diferentes, por exemplo, células O e A2 na mesma pessoa. O defeito está no *locus ABO* provavelmente mutação somática e é hereditário (DANIELS, 1995a). Mosaicos Rh são

encontrados em doenças mieloproliferativas, tais como leucemias mielóides e policitemia, devido à presença de clones de células monossômicas na circulação. São duas populações celulares de fenótipos diferentes por expressão anormal de antígenos Rh. Mosaicos em pessoas normais são encontrados provavelmente devido a mutações (DANIELS, 1995a).

Aspectos funcionais e susceptibilidade a doenças.

As abordagens para caracterização da função dos antígenos de grupos sanguíneos humanos foram por demonstração direta pela purificação da molécula, por homologia com outras moléculas após clonagem, pelo estudo dos fenótipos “null” e comparação com moléculas já caracterizadas (LUBLIN, 1995).

Proteínas de transporte são carreadoras de ânions, como a banda 3 ou AE1. Deleção dos aminoácidos 400-408 causa defeito no transporte de íons e interação anormal com o citoesqueleto, originando a ovalocitose do Sudeste Asiático. Os antígenos Diego e Wright fazem parte da banda 3. A doença ovalocitose hereditária leva à depressão dos antígenos e confere resistência ao *P. falciparum*. A Aquaporina é uma proteína de transporte da água na membrana eritrocitária, existindo também em células renais, que abrigam os antígenos Colton, produzidos no cromossoma 7. Os antígenos Kidd são transportadores de uréia e presume-se que Rh e Kx tenham funções ainda não identificadas relacionadas a transporte (LUBLIN, 1995; TELEN, 1995a; TELEN, 1996).

Glicoproteínas componentes do grupo dos receptores do complemento, como C4, expressam-se com os antígenos Chido/Rodgers (MOULDS, 1995) e DAF (“decay-accelerating factor”) com antígenos Cromer. DAF é uma proteína composta por glicosilfosfatidilinositol (GPI) agindo como âncora na membrana, sendo formada por sequências de aminoácidos chamadas SCRs (“short-consensus repeats”). Proteína contendo um SCR foi exposta em células transfectadas de ovário de hamster chinês, abrindo caminho para o uso de antígenos recombinantes em imunohematologia (TELEN *et alii*, 1994). Nos fenótipos Dr (a-) e In (ab) a expressão do DAF está reduzida ou ausente, no primeiro caso por deleção de 44 aminoácidos (LUBLIN *et alii*, 1994). O

receptor de C3b/C4b expressa-se com antígenos Knops (LUBLIN, 1995; TELEN, 1995a; TELEN, 1996).

Vários antígenos estão relacionados a funções adesivas. O antígeno Indian ou CD44 liga eritrócitos e leucócitos a moléculas de hialurato de glicosaminoglican, fibronectina e colágeno. Os antígenos LW têm homologia com moléculas de adesão intercelular (ICAM-1), ligantes das proteínas função-associadas de linfócitos (LFA-1). Não é certeza, porém acredita-se que os antígenos LW sejam moléculas de ligação do complexo Rh e de eritrócitos infectados pelo *P. falciparum*. Os antígenos Lutheran pertencem à família de imunoglobulinas (LUBLIN, 1995; TELEN, 1995a; TELEN, 1996).

As glicoforinas são proteínas estruturais, importantes na manutenção da forma da membrana e pela maior parte de sua carga elétrica. Os antígenos MN estão localizados na GPA, Ss na B, Gerbich nas C e D e An^a na GPD (DANIELS *et alii*, 1993). A ausência destas duas últimas glicoforinas leva ao aparecimento de eliptócitos (LUBLIN, 1995; TELEN, 1995a; TELEN, 1996).

Os antígenos Cartwright estão localizados na acetilcolinesterase dos eritrócitos (RAO *et alii*, 1993) e Kell possui homologia com as endopetidases, tais como o antígeno comum da leucemia linfoblástica (CALLA), as encefalinas, oxitocina, bradicinina, angio e neurotensinas. Sua função seria a degradação de hormônios (LUBLIN, 1995; TELEN, 1995a; TELEN, 1996).

Receptores celulares estão expressos em eritrócitos, sendo que o polimorfismo não afeta sua função, somente os fenótipos “null”. Esta característica é importante nos testes de aglutinação utilizados no diagnóstico de infecções bacterianas e virais. Com relação à malária, algumas pessoas da raça negra são resistentes à infestação pelos parasitas do *P. vivax*. Foi possível demonstrar *in vitro* que parasitas do *P. knowlesi*, parasitas de macacos, não invadem células Fy (a-b-). O antígeno Duffy está relacionado com resistência ao *P. vivax* e conferiu vantagem evolutiva aos indivíduos na África (MILLER, GOOD & MILON, 1994; CHAUDHURI *et alii*, 1995). As quimiocinas Interleucina-8 (IL-8) e MGSA bloqueiam a invasão de células Duffy positivas pelo plasmódio, assim como por anticorpos monoclonais dirigidos contra os antígenos Fy₆ e Fy^a. O tratamento destas células com quimiotripsina também confere resistência à invasão, sugerindo que o epítipo Fy₆ é importante na invasão celular pelo *P. vivax*. Em culturas de Plasmódio foi isolada uma proteína que se liga às células Duffy positivas, sugerindo que este contato é essencial para a invasão celular após o parasita ter aderido à membrana. Os fenótipos En(a-) (deficiência de GPA) e M^KM^K (deficiência de GPA, B e banda 3) resistem ao *P. falciparum*, por deficiência das glicoforinas A e B (BRUCE *et alii*, 1994). Os carboidratos ou proteínas de grupos sanguíneos são receptores de moléculas de adesão bacterianas. Cromer (DAF) é receptor das adesinas da *E. coli* causadora de infecções do trato urinário inferior. Os antígenos PP1P^K, das

fímbrias da mesma bactéria que invade o trato urinário alto, causando pielonefrites (*E. coli* pielonefritogênica). O *H. pylori*, considerado agente causador de gastrites, úlceras e adenocarcinoma de estômago utiliza o antígeno Le^b como receptor (BORÉN *et alii*, 1993). Este é sintetizado pelas células epiteliais do estômago e adsorvido nos eritrócitos. Os antígenos Lewis têm sido relacionados também a infecções urinárias em crianças (JANTAUSCH *et alii*, 1994), infecções pela *B. pertussis* e *S. aureus* (MOULDS *et alii*, 1996). O parvovírus B19, responsável pelo eritema infeccioso, crise aplástica em portadores de doença falciforme e aplasia crônica eritrocitária em imunodeprimidos, utiliza como receptores os antígenos P1 e P2 (BROWN, ANDERSON & YOUNG, 1993). Indivíduos sem o antígeno P são naturalmente resistentes (BROWN *et alii*, 1994). Provavelmente enterovírus (echovírus e coxsackie) também agem assim. Suspeita-se que os antígenos Indian sejam receptores de poliovírus (LUBLIN, 1995). Receptores de complemento e provavelmente os antígenos relacionados participam do mecanismo de infecção pelo *T. cruzi*, vírus da imunodeficiência humana (HIV) e *M. leprae* (MOULDS *et alii*, 1996). O antígeno AnWj participa de interação com fímbrias do *H. influenzae* (MOULDS *et alii*, 1996).

Os epítomos não têm relação com os locais funcionais das moléculas de antígenos de grupos sanguíneos de seres humanos (LUBLIN, 1995).

Aumento da susceptibilidade a doenças está relacionado à presença de determinados antígenos: câncer de glândulas salivares, estômago, intestino grosso, útero e ovários têm maior incidência em pessoas do grupo sanguíneo A que O (GARRATY, 1995); células malignas podem apresentar novos antígenos (Tn, Le^x) sendo este último ligante de selectinas que favoreceriam o potencial metastático; antígenos incompatíveis com a herança podem surgir nos linfomas de Burkitt (P^k) ou no câncer de estômago (P e P1 em paciente p). Apesar de não haver relação direta entre grupo sanguíneo e a coagulação sanguínea, pessoas do grupo O têm maior incidência de hemorragias que A, e as de grupo A maior incidência de trombozes, níveis de Fator VIII e de colesterol que O. Pessoas O são mais propensas a úlceras gástricas e duodenais, artrite reumatóide, doença de von Willebrand e trombozes (GARRATY, 1995); pessoas Rh (D) negativo com carcinoma de células escamosas da boca têm maior mortalidade; o fenótipo i adulto é frequentemente acompanhado de catarata congênita, e esta associação tem sido explicada por deleção cromossômica que engloba vários gens; não secretores ABH a infecções por Cândida, Neisseria, Hemófilo e Estreptococo (CALHOUN & PETZ, 1995). Pessoas do grupo O teriam maior susceptibilidade à peste, cólera, lepra tuberculóide, tuberculose e caxumba. A e AB seriam susceptíveis à varicela e lepra lepromatosa (GARRATY, 1995). Resistência à malária está associada a determinados fenótipos e também aos antígenos Cad⁺ e Tn⁺ (TELLEN *et alii*, 1991). P “null” ou p possui resistência a infecções renais

pela *E. coli* (CALHOUN & PETZ, 1995). Determinadas doenças alteram os antígenos exacerbando ou deprimindo sua expressão. As leucemias mielocíticas agudas deprimem os ABH, a anemia hemolítica auto-imune (AHAI), os Rh, Kell e Kidd. Exacerbação do i é encontrada na Talassemia, Anemia Falciforme, Aplasia pura de células vermelhas (APCV) e Multinuclearidade eritroblástica hereditária com soro acidificado positivo (HEMPAS); também tem sido observada em condições nas quais ocorre redução do tempo de maturação eritroblástica na medula óssea como nas anemias sideroblásticas, refratárias e após flebotomias repetidas excessivamente. Antígenos crípticos (Tn) são expostos, levando ao aparecimento de campo misto nas reações de aglutinação, nas pré-leucemias e Leucemia Mielomonocítica Aguda (GARRATY, 1995); aumento do T e Tk aparecem em determinadas infecções. Lesões tubo gastrointestinal, infecções graves e câncer em pessoas do grupo A causam aparecimento do antígeno B nos eritrócitos (B adquirido), devido à presença de uma desacetilase bacteriana que remove um grupo acetil da GalNAc. Substâncias produzidas por certos microorganismos podem adsorver nos eritrócitos alterando o grupo sanguíneo: o antígeno B pode ser assim adquirido após infecção por *E. coli* e *P. vulgaris*; K por *E. faecium* e Jkb+- "like" por *E. faecium* e micrococcus (CALHOUN & PETZ, 1995).

A ausência dos antígenos do sistema Rh (Rh "null") causa profunda modificação na forma e na função da membrana dos eritrócitos, levando ao

aparecimento de estomatócitos, esferócitos, anemia hemolítica, redução da fragilidade osmótica, aumento da permeabilidade a cátions, fazendo com que a célula perca água; ocorrem também alterações da membrana tais como elevação da ATPase, redução do colesterol, das glicoforinas e dos antígenos SsU, LW, Fy5, U, Duclos e Rh (CHÉRIF-ZAHAR *et alii*, 1993). O fenótipo McLeod se deve à ausência do antígeno Kx, havendo também expressão fraca do Kell, causando o síndrome de McLeod com acantocitose, rigidez dos eritrócitos com redução de sua vida média e acima dos 40 anos de idade, defeitos neurológicos e musculares, como atrofia muscular, diminuição dos reflexos profundos, movimentos coreiformes e cardiomiopatia com aumento da creatinofosfoquinase. Algumas pessoas possuem este fenótipo associado a doença granulomatosa ligada ao sexo com deleções no braço curto do cromosoma X (DANIELS, 1995a).

No sistema Gerbich, a ausência da glicoforinas C e D ocasiona eliptocitose e depressão concomitante dos antígenos Kell. Lu (a-b-), se produzido por gen inibidor *In(Lu)*, causa poiquilocitose e acantocitose nos eritrócitos, exacerbando as lesões de estocagem em bancos de sangue; Jk (a- b-), produto do *In(Jk)*, é resistente à hemólise por uréia (CALHOUN & PETZ, 1995).

Anticorpos antieritrocitários.

A maior importância clínica dos antígenos é devida aos anticorpos que induzem (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993) cujo papel biológico é neutralizar e destruir seus indutores (SILBERSTEIN, 1993). Podemos classificá-los em aloanticorpos e auto-anticorpos. Conforme o estímulo de produção, em naturais (sem referência à transfusão ou gravidez) ou imunes (estimulados por eles) (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993). Originados da ativação de células B, possuem estrutura e especificidade heterogênea, podendo ser dirigidos contra vários determinantes antigênicos, resultantes da ativação de vários clones (SILBERSTEIN, 1993) . As classes de imunoglobulinas envolvidas são IgG, IgA e IgM. A IgG não aglutina células em solução salina, necessitando para isto da antiglobulina humana, e hemolisa eritrócitos através dos macrófagos do fígado e do baço. Pode fixar complemento, sendo a IgG3 mais eficiente nesta tarefa. A IgM não atravessa a placenta, aglutina eritrócitos e fixa complemento eficientemente. Trata-se de anticorpo de baixa afinidade que age em temperatura inferior a 37⁰ C. A IgA está presente nas secreções, não atravessa a placenta nem fixa complemento, porém seus agregados podem fazê-lo pela via alternativa, além de desencadear ativação celular (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993).

Anticorpos naturais são heteroaglutininas induzidas por substâncias do meio ambiente semelhantes aos antígenos eritrocitários, mais exatamente,

produtos bacterianos que podem ser introduzidos no organismo por inalação ou ingestão (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993). Aves criadas em ambiente asséptico não desenvolvem anticorpos (DANIELS, 1995a). Os mais comuns são anti-A, -B, -H, -PP1P^K e -P; frequentemente encontrados são anti-A1, -Le^a, -Le^b e -P; raramente encontrados anti-Sd^a, -V^W e -Wr^a; muito raros são anti-M, -S, -N, -Ge, -K, -Lu^a, -Di^a, -Xg^a; raríssimos anti-D, -E, -C, -C^W e -C^x (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993). Poderão estar relacionados às reações transfusionais hemolíticas imediatas.

Anticorpos imunes específicos são produzidos após exposição a antígenos eritrocitários por gravidez e/ou transfusão. A resposta primária de anticorpos ocorre semanas a meses depois, havendo inversão de IgM para IgG, processo Timo dependente (SILBERSTEIN, 1993). Tentativas de bloquear a aloimunização a transfusões repetidas foram feitas com sucesso utilizando proteínas recombinantes bloqueadoras da ativação de células T responsáveis pela viragem IgM → IgG das células B (IBRAHIM *et alii*, 1996). A resposta secundária ou anamnésica demora dias ou semanas e caracteriza-se por grandes aumentos de IgG que permanecem até 30 anos depois. Anticorpos imunes estão relacionados às reações transfusionais hemolíticas tardias. São compostos por IgG, IgM ou IgA que agem à temperatura corporal normal. A maioria pertence ao sistema Rh e 40% são anti-K e -Fy^a.

Sua importância clínica deve-se a:

1. Reação transfusional hemolítica (RTH) graças à destruição *in vivo* dos eritrócitos transfundidos. A gravidade depende da carga antigênica e das características do anticorpo. IgG1 e IgG3 agem à temperatura corporal normal. Provocam hemólise intravenosa anti-A e -B com RTH imediata e -Jk^a, -Jk^b com RTH tardia. Hemólise extravascular é encontrada com anti-Rh, -Kidd, -Kell, -Duffy, -Ss.

2. Doença hemolítica perinatal (DHPN) causada por mãe sensibilizada a antígenos do feto, produzindo IgG1 e 3 que cruzam a placenta e agem à temperatura corporal normal. Geralmente são produzidos contra antígenos bem desenvolvidos ao nascer.

3. Anemia hemolítica auto-imune (AHAI) cujos anticorpos agem a quente e a frio e são produzidos por estímulos, tais como certas doenças, infecções virais, medicamentos, perda da tolerância a auto-antígenos e exposição com reação cruzada, geralmente IgG, agindo a 37⁰ C com especificidade anti-Rh, -Wr^a, -Kell, -Kidd e -MNSU. Os anticorpos frios agem à temperatura inferior a 25⁰ C e são IgM, aglutinando os eritrócitos e fixando complemento próximos a 37⁰ C, levando à hemólise ou oclusão vascular no frio (anti-I, -i, -H, -Pr e -P). Anti-P, encontrado na hemoglobinúria paroxística a frio, é hemolisina bifásica, também chamado de anticorpo de Donath-Landsteiner. Outras condições em que podem ser encontrados são pneumonia por mycoplasma, leucemia linfática crônica e doença de Hodgkin (anti-I), mononucleose

infecçiosa e doenças reticuloendoteliais (-i), enterocolite e infecções bacterianas (-K), cisto hidático (-P1), abortos espontâneos (-PP1P^K, -P), linfomas (-P), hemodiálise com exposição ao formaldeído (-Nf), neoplasias (-Forssman), hemólise viral (-Rx) e a- ou hipogamaglobulinemia (redução de anti-A e -B) (CALHOUN & PETZ, 1995).

Anti-A e -B estão presentes no soro de indivíduos que não possuem os antígenos respectivos, com exceção dos recém-nascidos. Subgrupos de A ou B, quimeras, portadores de hipogamaglobulinemia, idosos ou de causa idiopática têm deficiência adquirida destes anticorpos (CALHOUN & PETZ, 1995). São originados de produtos bacterianos ambientais, pois alimentando-se crianças com leite portando cepas mortas de *E. coli* O₈₆ estas induziram o desenvolvimento de anti-B. Estes anticorpos naturais podem ter suas características alteradas por imunização (aumento do título, da avidéz, da capacidade hemolítica e da atividade a 37⁰ C). Podem ser IgM, IgG ou IgA ou as 3 classes no mesmo indivíduo. IgM geralmente são naturais e IgG imunes. Mães de crianças A ou B e doadores de sangue imunizados possuem IgG1 e IgG2. Pessoas do grupo O possuem IgA mais ativa. Estão presentes em vários líquidos corporais, tais como saliva, leite, secreções orais, lágrimas e conteúdo de cistos. Indivíduos do grupo O fazem anti-A, -B e -A,B IgG contra estruturas comuns dos determinantes A e B (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993).

O significado clínico de anti-A e -B é devido à reação transfusional hemolítica (RTH) imediata que desencadeiam, evoluindo para coagulação intravascular disseminada, insuficiência renal aguda e morte. Sangue do grupo O utilizado em outros grupos pode levar à hemólise pelos anticorpos transfundidos com o plasma. Anti-A1 raramente causa RTH. Em países desenvolvidos, devido ao uso da imunoglobulina Rh, a maior causa de incompatibilidade materno-fetal é ABO, sendo anti-A,B mais importante que anti-A e -B. A baixa incidência desta complicação é devida ao fato de haver no feto poucos antígenos nos eritrócitos, presença de substâncias A e B solúveis e baixos níveis de complemento. A gravidade da doença foi atenuada com o uso de trissacarídeos sintéticos que dissociam os anticorpos dos eritrócitos. Auto-anticorpos geralmente têm especificidade anti-AI ou -BI podendo ser encontrados em AHAI, levando à hemólise fatal e insuficiência renal aguda (DANIELS, 1995a).

Anticorpos monoclonais têm sido produzidos por hibridomas ou animais imunizados com linfócitos, células ou substância A ou B inclusive sintéticas, células cancerosas ou EGF ("epidermal growth factor"), possuindo as vantagens de serem manufacturados *in vitro* e dispensarem a imunização repetida de doadores. Mas há desvantagens, tais como, o anti-B muito potente identifica antígenos B-adquiridos e anti-A aglutina eritrócitos B (DANIELS, 1995a; GARRATY *et alii*, 1996).

Anticorpos anti-H reagem melhor com células O e A2 preferencialmente a A1 e B. São inibidos pela saliva de secretores. A reação com eritrócitos O de cordão umbelical é fraca. São comuns em indivíduos Bombay (O_h) e para-Bombay (A_h e B_h não-secretor). Podem causar RTH e DHPN. IgM monoclonal anti-H foi descrito em paciente com linfoma e anemia hemolítica auto-imune (DANIELS, 1995a). Anti-HI e -Hi não causam hemólise *in vivo* e são aglutininas fracas agindo à baixa temperatura.

Lectinas são substâncias hemaglutinantes extraídas de sementes de plantas que aglutinam células ou precipitam glicoconjugados. Peixes e répteis também possuem substâncias hemaglutinantes. As especificidades existentes são anti-A, -A1, -B, -A,B, -H e -HI (DANIELS, 1995a).

Anti- Le^a é frequentemente encontrado no fenótipo Le (a-b-), geralmente ABH secretores, mais nos grupos A e B. É uma IgM natural que geralmente fixa complemento, sendo raramente IgG. Pode ocorrer reação cruzada com o antígeno Le^b e age a temperaturas menores que 37^0 C. Alguns destes anticorpos são linfocitotóxicos (DANIELS, 1995a). Anti- Le^b é raro, encontrado em Le (a-b-), geralmente não secretores ABH, IgM, podendo ser linfocitotóxico. Raramente causa RTH pois não são ativos a 37^0 C. Substâncias Lewis no plasma do doador podem neutralizar os anticorpos do receptor e sabe-se que os antígenos Lewis eluem-se dos eritrócitos transfundidos no Le (a-b-). Pode originar DHPN leve pois os antígenos estão presentes no feto.

Anti-M é anticorpo natural comumente encontrado, principalmente na infância. Possui efeito dose, é pH dependente e 4^o C é a temperatura ótima de reação. Anticorpos imunes são encontrados após transfusão e, por infecção bacteriana, em indivíduos não transfundidos. A maioria é IgG, porém, se IgM não fixa complemento. Anti-N é IgM natural, agindo melhor abaixo de 25^o C. Possui efeito dose e quando imune é pós-transfusional. Ambos não possuem importância clínica, pois raramente são ativos a 37^o C, mas têm atividade hemolítica demonstrada por redução da vida média de células marcadas com o isótopo cromo-51 (Cr⁵¹) e pela demonstração de fagocitose por monócitos, podendo então causar RTH. Raramente anti-M causa DHPN. Auto-anti-M é descrito na doenças das aglutininas frias sendo responsável por anemia leve. IgG anti-N é responsável por casos de AHAI. Anti-M e -N reagem com eritrócitos expostos à glicose e outros açúcares. Diabéticos podem desenvolver anti-M, sendo que a glicose liga-se ao grupo amino N-terminal dos aminoácidos da GPA e GPB, alterando os antígenos M e N. Anticorpos monoclonais, produzidos por hibridomas de esplenócitos de camundongo imunizados com eritrócitos de seres humanos ou glicoforina, foram utilizados para se estudar a frequência de mutação somática em pacientes com câncer submetidos à quimioterapia mutagênica e também em sobreviventes da bomba de Hiroshima. Sementes da planta brasileira *Vicea gramínea* produzem lectinas anti-N (DANIELS, 1995a).

A maioria dos anti-S é de origem imune, sendo IgG não fixador de complemento, agindo a 37⁰ C e a 10-22⁰ C. Pode ser responsável por RTH e DHPN. Auto-anti-S é encontrado em AHAI. Anti-s é raro, pode ser IgM ou IgG. Imune, pode ser causador de RTH tardia e DHPN fatal. Anti-U é IgG1, não fixa complemento, de origem imune, causa RTH fatal, abortamentos e DHPN. Auto-anti-U tem sido descrito em AHAI, uso de α -metildopa, *Miastenia gravis* e síndrome da imunodeficiência adquirida (DANIELS, 1995a).

Anti-P pode ser IgG, IgM ou IgA, incidindo nos fenótipos P^K e p. Hemólise em crianças após infecção viral é denominada hemoglobinúria paroxística a frio e causada por um anticorpo (IgG anti-P) denominado Donath-Landsteiner que tem a característica de sensibilizar os eritrócitos a 0⁰ C e destruí-los com o aquecimento. Anti-PP1P^K é encontrado em indivíduos p. Causa RTH grave, aborto e DHPN. Há elevada incidência de abortamentos espontâneos no primeiro trimestre da gravidez em mulheres p. P1 e P^K são expressos fortemente no feto, sendo o último responsável por citotoxicidade ligada a célula anticorpo dependente (ADCC). É IgG3, atravessa a placenta e parece ser esta o seu alvo. Plasmaférese terapêutica até o parto tem viabilizado a gravidez nestes casos (DANIELS, 1995a).

Anti-D é predominantemente IgG1 e IgG3, mas pode ser IgM, quando aglutina células em suspensão salina, e eventualmente IgA. Devido à grande distância entre sítios antigênicos não fixa complemento, pois a IgG não

consegue ligar-se ao C1q. Anti-C + D porém fixam complemento. Predominantemente imunes podem ser encontrados naturais. As células de memória de indivíduos D- sensibilizados com D+ parecem não ter vida longa, pois altos níveis de anticorpos conseguem-se somente após reforço. Anticorpos monoclonais foram produzidos em hibridomas de células de mieloma com linfócitos de seres humanos de indivíduos recentemente imunizados, "imortalizados" pelo vírus de Epstein-Barr (EBV). Têm sido utilizados para estudar os epítomos D parcial, como reagentes de grupos sanguíneos e na profilaxia da DHPN. São os anticorpos mais importantes depois de anti-A e -B. Infusão de 200 ml de células D+ causa aloimunização em 80% de indivíduos D-. Eritrócitos D+ (e outros componentes eventualmene contaminados por eles) nunca devem ser utilizados em pacientes D-, principalmente em mulheres na idade fértil. A sensibilização por hemorragia transplacentária na gravidez de crianças D+ causa DHPN. Profilaxia desta complicação pode ser obtida utilizando-se IgG anti-D até 72 horas após o parto, bloqueando os antígenos e removendo da circulação estas células (DANIELS, 1995a). A técnica monoclonal permite a produção de grandes quantidades. A IgG1 é responsável pelos casos de maior gravidade. No entanto, casos leves podem ocorrer após casos graves, graças a anticorpos anti-HLA maternos que bloqueiam os fragmentos Fc de macrófagos e monócitos salvando eritrócitos fetais da destruição (DANIELS, 1995a). Anti-C, -c, -E e -e são imunes, IgG1 e

causadores de RTH grave. Anti-c é responsável também por DHPN e anti-E pode ser natural. Auto-anticorpos causadores de AHAI reagem a quente, sendo o anti-e mais comum, mas podem ser encontradas IgM anti-D. Existem também na forma droga-induzida e em D parcial.

Anti-Lu^a é de origem imune, descrito em politransfundidos portadores de Lupus Eritematoso Sistêmico e na gravidez. É comum a associação com outros anticorpos inclusive com anti-HLA eritrocitário (anti-Bg). Pode ser natural, aglutinando eritrócitos Lu(a+) diretamente e pelo uso da antiglobulina humana. Pode ser IgM, IgG ou IgA e agem em temperaturas inferiores a 37⁰ C. Anti-Lu^b pode ser encontrado isolado ou em misturas de anticorpos, podendo ser natural ou imune preferencialmente, desencadeado por transfusão ou gravidez. A maioria de seus portadores são mulheres. Aglutina as células diretamente ou pela antiglobulina humana., agindo em temperaturas inferiores a 20⁰ C, podendo ser IgG, IgM ou IgA. Os antígenos são pouco desenvolvidos no feto, atenuando as consequências e causando hiperbilirrubinemia indireta e teste de antiglobulina direto positivo. Os anticorpos podem causar reações leves ou icterícia pós-transfusional (DANIELS, 1995a).

Anti-K, de origem imune, é o mais comum após Rh, sendo antígeno K muito imunogênico, IgG1, reagindo com uso de antiglobulina humana. É causador de DHPN e RTH. Anti-K em homens não transfundidos é imputado à infecção por *E. coli* (enterocolite) sendo o antígeno K identificado na bactéria.

Porém casos de septicemia não devidos a ela também desenvolveram anti-K, assim como casos de tuberculose, infecções pelo *E. faecalis* e *M. morgani*. Anti-k é IgG1 evidenciado pela antiglobulina, mas pode ser IgM a frio, responsável por RTH e DHPN. Anti-Kp^a é possivelmente natural, evidenciado pela antiglobulina e responsável por DHPN. Anti-Kp^b é anticorpo natural, composto de IgG1 e IgG4, não necessita antiglobulina e pode causar raramente DHPN grave e RTH. Anti-Js^a é de origem imune necessitando de antiglobulina, responsável por DHPN e RTH. Js^b é comum em negros, evidenciado pela antiglobulina, responsável por DHPN e RTH (DANIELS, 1995a).

Anti-Fy^a é resultado de antígeno menos imunogênico, sendo os portadores, em sua maioria, da raça negra. Esporadicamente é natural, sendo quase sempre produto de transfusão, sendo frequente mistura de anticorpos. É IgG1 utilizador de antiglobulina, metade fixando complemento e alguns discernindo efeito dose do antígeno. Responsável por RTH imediata e tardia que podem ser fatais. Pode causar DHPN de gravidade variável, de leve a fatal, esta em mãe previamente transfundida. Anti-Fy^b é mais raro, existindo em mistura de anticorpos, desencadeados devido a gravidez, transfusão ou transfusão intra-uterina, existindo como IgG1. Ocasionalmente tem sido considerado natural. É causador de RTH tardia e fatal e de DHPN. Como auto-anticorpo foi encontrado também em AHAI (DANIELS, 1995a).

Anti-Jk^a e -Jk^b são resultados de antígenos de baixa imunogenicidade existindo geralmente em misturas de anticorpos, o primeiro descrito após amniocentese e transfusão intra-uterina. São difíceis de detectar, portanto perigosos, evidenciados somente com uso de antiglobulina, enzimas ou polibreno. Fixam complemento e são IgG3 ou 3 + 1 e eventualmente IgG/IgM. Causadores de RTH grave e fatal (anti-Jk^a) ou tardia (-Jk^b). Possuem tendência a diminuírem os níveis plasmáticos rapidamente. No entanto DHPN é raramente encontrada. Anemia hemolítica auto-imune por auto-Jk^a é possível pelo uso de metildopa, clorpropamida e outras sulfoniluréias e, recentemente, o antígeno Kidd foi considerado o transportador de uréia do eritrócito. Casos benignos com uso de butilparaben e outros, assim como p-hidroxibenzoatos, têm levado à suposição de que estas substâncias alteram o Jk^a tornando-o reconhecível pelo anticorpo. Auto-anti-Jk^b foi descrito após nefrectomia e infecção por *Proteus* (DANIELS, 1995a). Anticorpos monoclonais produzidos por heterohibridomas são utilizados como reagentes de grupos sanguíneos.

Anti-Di^a e -Di^b são raramente naturais. Os de origem imune, induzidos na gravidez, causam DHPN. Anti-Di^b pode ser causador de RTH tardia. Provoca aglutinação direta ou necessita de antiglobulina, das classes IgG1 e IgG3 (DANIELS, 1995a).

Anti-Wr^a é frequente em doadores de sangue e após parto. Causa aglutinação direta ou por antiglobulina, sendo das classes IgG ou IgM, podendo

causar DHPN, RTH e AHAI. Anti- W_{I^b} é encontrado em fenótipos raros MNS, podendo causar RTH leve tardia e AHAI (DANIELS, 1995a).

Anti-I (SILBERSTEIN, 1993) é auto-anticorpo causador de anemia hemolítica conhecida como doença das aglutininas frias. Monoclonal (IgM κ), responsável por aglutinação direta a 4⁰ C e inativo acima de 30⁰ C, pode também ser poli ou oligoclonal quando induzido por infecção pelo *M. pneumoniae*. Aparece em 50% dos casos, 3 semanas após o início dos sintomas respiratórios. O patógeno altera o receptor I-siálico tornando-o imunogênico. Pessoas normais podem desenvolver auto-anti-I frio. Aloanti-I é encontrado em adultos i sendo potencialmente perigoso. Auto-anti-i é encontrado em AHAI causada por doenças linforeticulares, leucemias mielóides e raramente na doença das aglutininas frias. Portadores de mononucleose infecciosa (infecção pelo vírus de Epstein-Barr) desenvolvem hemólise raramente, porém 8 a 90% dos casos formam IgM. Portadores de imunodeficiência (Síndrome de Wiskott-Aldrich) e doentes com AIDS desenvolvem auto-anti-i. Infecção pelo EBV é endêmica nestes pacientes. Sendo IgG materna pode atravessar a placenta e causar icterícia com teste da antiglobulina direto positivo no feto. RTH também tem sido causada por este anticorpo. Anticorpos monoclonais anti-I foram obtidos por heterohibridomas de células do mieloma em camundongos e linfócitos de pacientes com câncer de pulmão ou esplenócitos de pacientes com Síndrome de Wiskott-Aldrich (DANIELS, 1995a). NAGATSUKA *et alii*, 1995, relata

monoclonal anti-i produzido por linfócitos transformados pelo EBV inoculados com antígeno i de origem bovina. Estes anticorpos aglutinam células de cordão umbelical, sugerindo a presença de um novo antígeno glicolipídico relacionado à diferenciação de células hematopoiéticas do ser humano.

OBJETIVOS

1. Verificar a incidência e especificidade de alo e autoanticorpos antieritrocitários em transplantados renais de mesmo grupo sanguíneo doador-receptor utilizando os testes de antiglobulina indireto e direto.

2. Verificar a incidência e especificidade de aloanticorpos antieritrocitários em pacientes portadores de insuficiência renal crônica em regime hemodialítico e politransfundidos, utilizando o teste de antiglobulina indireto.

3. Verificar a incidência e especificidade de aloanticorpos antieritrocitários em pacientes portadores de insuficiência renal crônica em regime hemodialítico e politransfundidos, utilizando o teste de antiglobulina indireto , antes e após o transplante renal.

4. Verificar a incidência e especificidade de aloanticorpos antieritrocitários em doadores de sangue, utilizando o teste de antiglobulina indireto.

CASUÍSTICA E METODOLOGIA

Estudamos 78 pacientes na faixa etária 11 a 59 anos (média 36,84 anos), um terço dos quais mulheres que receberam, há pelo menos 6 meses, transplante renal para tratamento definitivo de insuficiência renal crônica causada por várias doenças de base. Todos estavam com a função renal satisfatória, 65 sendo mantidos em imunossupressão pelo uso diário via oral da ciclosporina-A na dose de 8 mg/kg/dia, associada à azatioprina e prednisona, e 13 usando somente azatioprina com prednisona. Após a data do transplante (72% haploidênticos e 28% não-relacionados para os antígenos HLA), nenhum recebeu transfusões de sangue ou manifestou gravidez.

Durante os controles periódicos laboratoriais, incluímos a coleta de sangue venoso para a realização do grupo sanguíneo ABO, fator Rh (D), testes de antiglobulina direto e indireto e eluição dos anticorpos usando-se reagentes comerciais (Biostest S/A), utilizando as técnicas de aglutinação descritas em COOMBS, MOURANT & RACE, 1945, e WALKER, 1993. As amostras estavam absolutamente livres de lipemia e/ou de hemólise.

A identificação do grupo sanguíneo ABO foi realizada em tubo à temperatura ambiente de 20 a 22⁰ C, em eritrócitos contra soros contendo anticorpos anti-A, anti-B e anti-AB e em soro contra eritrócitos fenotipados contendo antígenos A1 e B.

O teste Rh foi realizado em tubo com eritrócitos utilizando anticorpo anti-D em meio salino à temperatura ambiente de 20 a 22^o C, albuminoso e AGH à temperatura de 37^o C com controle.

O teste antiglobulina direto foi realizado em eritrócitos lavados e diluídos, incubados com soro antiglobulina humana poliespecífico em tubo à temperatura ambiente de 20 a 22^o C e a 37^oC.

O teste antiglobulina indireto foi feito incubando-se soro contra duas populações de eritrócitos de doadores brasileiros fenotipados (Triacel lotes 339, 340, 341B, 342A, 343, 344, 345, 347, 348, 349A, 350, 351A, 352A, 353A e 354A), contendo pelo menos uma delas os seguintes antígenos de sistemas de grupos sanguíneos:

Rh: D+, C+, E+, c+, e+, f+;	MNS: M+, N+, S+, s+
Kell: K+, k+, Kp ^b +, Js ^b +	P: P1+
Duffy: Fy ^a +, Fy ^b +	Lutheran: Lu ^b +
Kidd: Jk ^a +, Jk ^b +	outros: Di ^a +
Lewis: Le ^a +, Le ^b +	

O autocontrole foi negativo em todos os testes realizados.

As amostras reagentes foram submetidas às técnicas de identificação de anticorpos contra um painel de 10 populações eritrocitárias previamente fenotipadas, glóbulos de cordão umbelical e autocontrole, utilizando-se reagentes comerciais (Biotest S/A) lotes 339, 345 e 348. Além dos antígenos de sistemas de

grupos sanguíneos citados anteriormente, pelo menos uma das amostras continha Js^a+, Kp^a +, Lu^a +, C^w + e V+.

A intensidade da aglutinação foi medida pelos seguintes critérios (WALKER, 1993):

- pó: granularidade fraca
- 1+: aglutinados pequenos com eritrócitos livres
- 2+: pequenos e grandes aglutinados sem eritrócitos livres
- 3+: alguns grandes aglutinados
- 4+: aglutinado único porém frouxo sem eritrócitos livres
- sólido: aglutinado único consistente

Concomitantemente, realizou-se estudo retrospectivo dos prontuários médicos destes pacientes, anotando-se idade, sexo, data do transplante, grau de relacionamento com o doador, perda do enxerto, episódios hemolíticos ou outros eventos clínicos desfavoráveis. Todos os transplantados são pacientes do Instituto de Urologia e Nefrologia de São José do Rio Preto.

O mesmo procedimento (exceto o teste de antiglobulina direto) foi adotado em 8.451 doadores de sangue de faixa etária 18 a 65 anos, durante um período de 4 meses. A pesquisa de anticorpos irregulares no sangue do doador faz parte da rotina imunohematológica e obriga, em casos de anticorpos clinicamente significantes, excluir o uso do plasma. Foram anotados o sexo e a idade conforme os dados da triagem do Banco de Sangue do Hospital de Base

(Hemonúcleo de São José do Rio Preto). Um quinto dos doadores de sangue de nossa região são do sexo feminino.

Também adotamos esta última metodologia em 143 pacientes portadores de insuficiência renal crônica de etiologia variada em regime de hemodiálise, pertencentes ao Serviço de Nefrologia do Hospital de Base e ao Instituto de Urologia e Nefrologia de São José do Rio Preto .

Teste não-paramétrico de significância estatística ao nível de 5% (PEARSON, 1904; SOUNIS, 1976) foi aplicado aos resultados obtidos de transplantados usando ciclosporina e azatioprina, pois em transplantes não isogrupo ABO/Rh os usuários de ciclosporina desenvolveram maior incidência de anticorpos que os de azatioprina (RAMSEY, 1991).

Sangue de nove hemodialisados foi examinado antes e após o transplante renal pelo teste de antiglobulina indireto. Apesar do pequeno tamanho da amostra foi aplicado teste de estatística não paramétrico (WILCOXON, 1945).

RESULTADOS

1. TRANSPLANTADOS RENAIIS

Obtivemos, em 78 pacientes, 9 com teste de antiglobulina indireto positivo (11,5%). Nos 65 usando CsA, 6 (9%) foram positivos, e 59 negativos. Nos 13, usando AZA, obtivemos 3 positivos (23%) e 10 negativos.

Nos transplantados com testes negativos, estes foram refeitos pelo menos mais uma vez durante o período de estudo, confirmando o resultado anterior.

Nos positivos de ambos os grupos o sexo masculino predominou sobre o feminino (72 x 28 %).

TABELA 1. Incidência de anticorpos antieritrocitários em transplantados renais segundo esquema imunossupressor

	positivo	%	negativo	%	total	total %
azatioprina(*)	3	23	10	67	13	100
ciclosporina(*)	6	9	59	91	65	100
total	9	11,5	69	88,5	78	100

(*) p = 0,34

A tabela acima expõe quantitativamente os anticorpos identificados nos grupos ciclosporina e azatioprina. As especificidades foram anti-HI (2), anti-CD (1), anti-D (1), anti-Fy^a (1) e crioaglutinina IgM (1) no grupo ciclosporina e no

grupo azatioprina encontramos crioaglutinina IgM (1), anti-HI (1) e anti-I (1), conforme a tabela abaixo.

TABELA 2. Especificidade de anticorpos antieritrocitários encontrados em transplantados renais

anti-	ciclosporina	azatioprina	total	%
HI	2	1	3	33
CD	1		1	11
D	1		1	11
Fya	1		1	11
IgM	1	1	2	23
I		1	1	11
total	6	3	9	100

O teste da antiglobulina direto (TAGD) foi positivo em 2 pacientes (3% do total), ambos pertencentes ao subgrupo usando ciclosporina-A, equivalentes a 33%, portadores de anti-HI e crioaglutinina IgM. O estudo dos eluatos confirmou as especificidades.

Não houve aumento de morbidade, anemia hemolítica, necessidade de transfusões ou intercorrência de gravidez.

A prevalência de anticorpos antieritrocitários em transplantados renais usuários da ciclosporina é bem superior aos de azatioprina, no caso de haver incompatibilidade ABO/Rh entre doador e receptor (RAMSEY, 1991).

Como em todos os casos estudados havia esta compatibilidade, comparamos a prevalência de anticorpos nos dois subgrupos, utilizando teste estatístico Qui-quadrado (PEARSON, 1904; SOUNIS, 1976). Estudamos 78 transplantados, 13 dos quais usando azatioprina e 65 ciclosporina-A. Encontramos 9 casos com anticorpos positivos, 3 do subgrupo azatioprina e 6 ciclosporina-A. Foram formuladas as hipóteses de que a prevalência é a mesma nos dois subgrupos (H_0) e a de que é diferente (H_a). O cálculo dos valores esperados nos dois subgrupos foi obtido aplicando-se a fórmula: $\% \text{ observada} \div 100 \times \text{Total}$.

TABELA 3. Valores esperados na pesquisa de anticorpos antieritrocitários em transplantados renais, usando ciclosporina-A e azatioprina.

	POSITIVO	NEGATIVO
azatioprina	1,56	11,44
ciclosporina	7,80	57,20

Aplicando-se a fórmula do Qui-quadrado, com correção de Yates sendo $O =$ observado e $E =$ esperado, temos:

$$\chi^2 = \sum \frac{[(O - E) - 0,5]^2}{E}$$

$$\chi^2 = \frac{[(3 - 1,56) - 0,5]^2}{1,56} + \frac{[(6 - 7,80) - 0,5]^2}{7,80} + \frac{[(10 - 11,44) - 0,5]^2}{11,44} + \frac{[(59 - 57,20) - 0,5]^2}{57,20} =$$

$$\chi^2 = \frac{(0,94)^2}{1,56} + \frac{(-2,30)^2}{7,80} + \frac{(-1,94)^2}{11,44} + \frac{(1,30)^2}{57,20} =$$

$$\chi^2 = 0,56 + 0,68 + 0,33 + 0,03 = 1,60$$

Para um grau de liberdade, aplicando-se a tabela do Qui-quadrado, obtivemos o valor de 3,8 para $p = 0,05$. O teste exato de Fisher (FISHER, 1948) evidenciou $p = 0,167$ ($\alpha > 0,05$, não significante). Consideramos, portanto, a primeira hipótese (H_0) válida.

Anticorpos presumivelmente naturais foram 6 (67%), distribuídos igualmente entre os subgrupos usuários de ciclosporina-A e azatioprina, e imunes 3 (33%), presentes somente no primeiro subgrupo.

2. DOADORES DE SANGUE

Em 8.451 amostras de sangue obtivemos 27 reagentes para anticorpos antieritrocitários (0,32%).

Entre as 27 amostras conseguimos identificar 21 (0,25%) oito contra antígenos do sistema Rh dos quais seis anti-D e dois anti-CD; três anti-I; dois

anti-K; quatro anti-Lewis sendo dois anti- Le^b, um anti- Le^a e um anti-Le^a + H ; um anti-HI; um anti-N; um anti-P1 e um anticorpo IgM. Neste grupo existiam 12 mulheres e 9 homens (63 x 37 %).

Os fenótipos O, A, B e AB incidem em 47%, 42%, 8% e 3% respectivamente na Inglaterra (DANIELS, 1995a). No Brasil (PALATNIK, 1992) sua prevalência é de 50-60%, 24-37%, 6-14% e 2-4% respectivamente. Em São José do Rio Preto (ANGULO, 1997) foram encontrados 48% do grupo O, 38% do A, 10% do B e 4% do AB. Com referência ao antígeno D do sistema Rh, este foi encontrado em 82 a 88% da raça branca, em 95% de africanos e 100% de chineses e japoneses (DANIELS, 1995a). Em São José do Rio Preto a prevalência foi de 82,6% (ANGULO, 1997). O D fraco foi encontrado em 0,3% de brancos e 1,7% de negros na Inglaterra (DANIELS, 1995a), variando de 0,5 a 1,93% no Brasil (PALATNIK, 1992), sendo que em São José do Rio Preto a prevalência foi de 1,1% (ANGULO, 1997).

TABELA 4. Especificidade de anticorpos antieritrocitários em 8.451 doadores de sangue

anti-	número	%	% do total
D	6	29	0,07
CD	2	9	0,02
I	3	14	0,04
K	2	9	0,02
Lea	1	5	0,01
Leb	2	9	0,02
Lea +H	1	5	0,01
HI	1	5	0,01
N	1	5	0,01
P1	1	5	0,01
IgM	1	5	0,01
total	21	100	0,25

Foram encontrados 10 anticorpos naturais (0,12%) e 11 imunes (0,13%) e somente um caso com mais de uma especificidade (Le^a + H).

3. PACIENTES

A média das idades foi 41,15 com desvio-padrão de 13,51. Foram encontrados 11 casos com anticorpos (7, 7%), sendo 8 mulheres e 3 homens (72 x 27%), com as seguintes especificidades: anti-D (4), anti-C (2), anti-Le^a (1), anti-HI (1), anti-Kell (1), anti-N (1) e IgG não identificada (1).

TABELA 5. Especificidade de anticorpos antieritrocitários em 143 pacientes com insuficiência renal crônica em regime hemodialítico e politransfundidos

anti-	número	%	% do total
D	4	37	2,80
C	2	18	1,40
HI	1	9	0,70
Kell	1	9	0,70
Le ^a	1	9	0,70
N	1	9	0,70
IgG	1	9	0,70
total	11	100	7,7

Foram encontrados tres anticorpos naturais - anti-HI, anti- Le^a e anti-N (27%) - e oito imunes (73%). A média transfusional de concentrado de eritrócitos destes pacientes situa-se em torno de 20 unidades.

Em 9 casos analisados antes e após o transplante renal, apenas um revelou soroconversão (anti-HI), amostra considerada pequena para ter significância estatística, porém teste não-paramétrico (WILCOXON, 1945) evidenciou ser não significante ($z = 1,34, \alpha > 0,05$).

DISCUSSÃO

Existe ampla variação individual na resposta a estímulo antigênico eritrocitário transfusional; em muitos antígenos, esta depende da presença concomitante de antígenos HLA classe II, mas a magnitude desta resposta depende de outros gens não-HLA com segregação independente.

A presença de doenças auto-imunes (ISSIT *et alii*, 1996) afeta a quantidade e a qualidade dos anticorpos antieritrocitários, por exemplo, em pacientes com Lupus Eritematoso Sistêmico existe a produção de vários deles, em anemia hemolítica auto-imune existem em 31% dos pacientes após transfusão e/ou gravidez, em hipogamaglobulinemia há desaparecimento do anti-A e -B, em pacientes com leucemia linfática crônica não se desenvolvem ou raramente o fazem, ao contrário de pacientes politransfundidos com leucemia mielocítica aguda, anemia aplástica ou hemorragia digestiva (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993). Recém-nascidos raramente produzem anticorpos após estímulo transfusional devido à tolerância imunológica. Portadores de Talassemia Maior, transfundidos desde os primeiros meses de vida, apresentam incidência de 5,2%. Quando transfundidos mais tardiamente é bem mais elevada (21,1%), sendo 84% anti-Rh e -K. Metade dos casos apresenta anticorpos contra mais de uma especificidade.

Outros exemplos de imunomodulação desencadeada por transfusões repetidas de sangue são: redução de anticorpos anti-HLA, melhoria da aceitação de

enxertos de pele, transplantes e neoplasias (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993).

A presença do baço parece não ser essencial. Pacientes adultos com anemia falciforme e auto-esplenectomia apresentam incidência de 18,6%, sendo os mais comuns anti-C, -E e -K, na metade dos casos contra várias especificidades. A incidência de aloimunização tem sido relacionada ao número de transfusões, já que a média de unidades transfundidas é menor nos não-alloimunizados. Desde 1986 recomenda-se transfundir eritrócitos fenotipados para os sistemas Rh e Kell em pacientes portadores destas anemias hemolíticas hereditárias (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993).

Alo e auto-anticorpos podem aparecer havendo enfraquecimento dos antígenos, com tem sido verificado na gravidez (anti-Lewis) e na anemia hemolítica auto-imune (anti-D). Ao enfraquecimento dos antígenos LW e Kell, segue-se o aparecimento de anti-LW e -K respectivamente. A mudança do fenótipo Jk (a+b-) para (a-b-) induz o aparecimento do anti-Jk3 e a diminuição da expressão das β -sialoglicoproteínas enseja o aparecimento de anti- β SGP (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993).

A incidência de anticorpos antieritrocitários depende do estímulo e admite-se que as pessoas que nunca receberam transfusão ou desenvolveram gravidez nunca terão anticorpos imunes. A gravidez é um estímulo menos poderoso que transfusões, devido ao fato de que os antígenos do feto estão limitados aos paternos, e o número de eritrócitos fetais lançados na circulação materna é

insuficiente para estimular a resposta primária. Doadores de sangue têm baixa incidência devido à média de idade ser menor e não terem recebido transfusões ao menos nos últimos 10 anos. Pacientes que receberam somente uma unidade não desenvolvem anticorpos ou o fazem em pequena quantidade, porém os que as recebem frequentemente são os que mais os desenvolvem. A especificidade depende do grupo étnico, sendo o anti-D raro em chineses. A maioria é encontrado em mulheres D negativas sensibilizadas durante a gravidez. Desde 1940 a incidência do anti-D vem caindo gradativamente devido à compatibilidade das transfusões e uso da imunoglobulina anti-D, tendo-se porém notado aumento de anti-K e -Fy^a. O estudo de anticorpos imunes causadores de reações transfusionais hemolíticas imediatas ou tardias mostra que acima de 60% são causados por anticorpos dos sistemas Rh e Kell (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993).

A importância transfusional aponta os anti-A e -B como os principais devido ao fato de desencadear RTH imediata e geralmente fatal. Em segundo lugar, devido à frequência, estão os anti-Rh. Anti-Kidd causam frequentemente RTH tardia, são perigosos pois são difíceis de detectar, têm baixa concentração e tendência a desaparecer. Anti-Lewis raramente são perigosos pois são inativados no plasma.

Transplantados renais.

Os transplantados com incompatibilidade ABO menor (O para A ou B) foram descritos pela primeira vez por BECK, HAINES & OBERMAN, 1971, em transplante de pulmão, devido a linfócitos transplantados. "Auto-anti"-A, -A1 e -B foram descritos em 79/106 transplantes de rim, fígado, coração, pulmões, pâncreas e baço (RAMSEY, 1991). São IgG que aparecem aos 7 a 10 dias após o transplante e duram 30 dias. Podem causar hemólise com insuficiência renal aguda e morte (MINAKUCHI *et alii*, 1985). O estudo dos alotipos de imunoglobulinas mostrou serem os anticorpos originários do doador (SWANSON *et alii*, 1987). Em transplantados de medula óssea foram descritos por HOWS *et alii*, 1986. O uso da ciclosporina-A exacerba seu aparecimento (PETZ, 1991).

Anticorpos antitransferase têm sido encontrados após transplantes de órgãos (DANIELS, 1995a).

Anticorpos citotóxicos Lewis foram implicados na redução da sobrevida de transplantes renais. Em Lewis positivos a sobrevida do enxerto era maior aos 2 anos que Le (a-b-) . Foram considerados antígenos de histocompatibilidade. Estudos recentes, no entanto, mostraram o contrário, ou seja, Lewis (a-b-) teria maior risco de perda do enxerto havendo incompatibilidade HLA. Insuficiência renal aguda em transplantado de medula óssea foi imputado a anti-Le^a de origem doador. Em transplantado renal, anti-Le^{bH} teria sido o responsável pela rejeição de 2 rins, provavelmente por causar aglutinação (DANIELS, 1995a). Procurou-se associar o fenótipo HLA e a resposta imune aos antígenos eritrocitários

(BRANTLEY & RAMSEY, 1988). Estes autores estudaram 958 pacientes politransfundidos, 603 receptores de transplante renal, 263 de transplante hepático e 92 leucêmicos ou portadores de anemia aplástica receptores de transfusões de plaquetas. Não há referências à deleucotização. Os fenótipos HLA-B8, -DR3 e -Drw52, se receptores de transfusões de plaquetas contendo antígeno PL^{A1}, têm alta incidência de anticorpos específicos antiplaquetas. Aloanticorpos clinicamente significativos foram encontrados em 9,5% destes pacientes, sendo que em 3,7% havia anticorpos múltiplos. Em receptores de transfusões de plaquetas, 15% foram positivos, de transplantes renal 8,6% e hepático 9,5%. Anti-Rh representou 49% dos casos e -Kell 31%. Não se evidenciou relação com o fenótipo HLA, somente aumento da incidência de anticorpos anti-HLA. A incidência de anticorpos antieritrocitários e anti-HLA foi estudada em transplantados de medula óssea (ABOU-ELELLA *et alii*, 1995) receptores de sangue deleucotizado, sendo encontrado 2,1% de anticorpos antieritrocitários e 10% anti-HLA. De acordo com o número de transfusões recebidas, os autores calcularam que a incidência seria de 0,1% por unidade para anticorpos antieritrocitários e de 5 a 10% anti-HLA, ou seja, baixa para esta população de imunossuprimidos.

ROBERTSON *et alii*, 1987, descreveram anticorpos em receptor Jk (b+) de transplante de medula óssea de doadora Jk (b-), causados provavelmente por linfócitos "viajantes" com o enxerto.

Após transplantes renais e hepáticos de doador D-, receptores D+ desenvolveram anti-D de origem do doador (SWANSON *et alii*, 1985;

SWANSON *et alii*, 1987) levando à hemólise grave. CARTRON *et alii*, 1994, descreveram caso de transplante renal no qual o doador havia sido transfundido há anos. Também foram encontrados anti-c, -E e -e. Em transplantes de medula óssea de doadores D-, foram descritos anti-D em receptores D+ (HOWS *et alii*, 1986). Auto-anticorpos após transplante renal de cadáver com especificidade anti-Lu3 foram também descritos (DANIELS, 1995a).

Analisamos o transplante com compatibilidade (isogrupo) ABO e Rh, após um período que variou de 6 meses a 8 anos livres de transfusão e gravidez, para se afastar a possibilidade de estímulo antigênico ou de linfócitos "viajantes" viáveis (PETZ, 1991). A prevalência encontrada por nós foi 11,5 %. Supomos portanto que nesta população a imunossupressão farmacológica, a compatibilidade de grupos sanguíneos ABO/Rh com o receptor e a ausência de estímulo antigênico não foram suficientes para reduzir a prevalência de anticorpos antieritrocitários, provenientes do período anterior por transfusões, durante o tratamento hemodialítico da insuficiência renal crônica.

Quanto à especificidade destes anticorpos, 6/78 (7,7%) são presumivelmente naturais e, como estes são formados por estímulos bacterianos (DANIELS, 1995a), a imunossupressão poderia estar contribuindo para a proliferação de populações bacterianas fornecedoras de antígenos. Não foram referidas infecções intestinais nos casos estudados. Aparentemente estes anticorpos não interferiram na sobrevivência do enxerto. Anticorpos de origem imune foram encontrados em 3/78 (3,8%). Anti-Rh e Duffy são importantes clinicamente e poderão causar morbidade no caso de

transfusões e/ou gravidez (DANIELS, 1995a). Anti-I poderia significar sequela de infecção pelo *M. pneumoniae*. Isto demonstra a permanência de células de memória, aparentemente não afetadas pela imunossupressão. Não foram encontrados anti-Lewis.

Auto-anticorpos (teste da antiglobulina direto positivo) foram encontrados em 2/78 (2,56%) dos casos, todos no grupo usando ciclosporina-A, perfazendo 33% dos casos, sendo anti-HI e crioaglutinina IgM, não tendo importância clínica. A ciclosporina induz auto-imunidade (SCHWARTZ, 1993) sob forma de reação enxerto-*versus*-hospedeiro e desencadeamento de doenças auto-imunes em animais de experimentação. Isto seria devido à liberação de clones de células B pelo bloqueio das T-auxiliares consequentes à inibição da produção de interleucina-2 induzida pela droga (SCHEVACH, 1985; SCHREIBER & CRABTREE, 1992).

A pesquisa de anticorpos irregulares de rotina no soro de transplantados renais não parece ser necessária. No entanto, imediatamente antes e durante o primeiro mês após o transplante, esta deveria ser feita para se identificar os anticorpos imunes porventura existentes e se tomar os devidos cuidados posteriormente em casos de transfusão e/ou gravidez.

Doadores de sangue.

A prevalência encontrada por nós (0,32%) é a mesma descrita em outros trabalhos (CASTILHO, 1996) porém difere na especificidade, sendo menor a prevalência dos anticorpos naturais (0,12%). Quanto aos imunes (0,13%), em outros países varia de 0,16% a 0,22% (anti-D, -CD e -DE) e de 0,10% a 0,18% (não-D) sendo 30% deles anti-E e 20% anti-K (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993). Anti-Rh, encontrado em 38% das amostras (77,77% em CASTILHO, 1996) e -Kell em 9% (11,11% em CASTILHO, 1996) torna obrigatória a pesquisa de anticorpos irregulares em todas as doações para exclusão do plasma que os contiver. Em nosso trabalho a presença de anti-D (e anti-CD) é menor (0,09%), semelhante ao encontrado durante a gravidez (0,10 a 0,20% - MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993). Anti-Fy^a, não encontrados em nossos doadores, podem levar a RTH em pacientes Fy (a+b+). Anti-Kell pode ser responsável por interação interdoadores em um mesmo receptor (DANIELS, 1995a). O sexo feminino é predominante nos doadores com anticorpos de origem imune. Apesar de não termos informações sobre a paridade, supomos ser o resultado de estímulos de antígenos fetais. Não encontramos anti-M que incide em 0,3% de doadores em outros trabalhos (DANIELS, 1955a).

Propomos que as candidatas à doação de sangue sejam inquiridas com respeito à paridade, antecedentes de doença hemolítica perinatal e uso de imunoglobulina, informações úteis aos imunohematologistas.

O estudo dos anticorpos em doadores é importante, pois poderá trazer informações sobre segurança transfusional, imunogenética e diferenças inter-

raciais, e deveria ser efetuado usando-se técnicas mais sensíveis e específicas para os anticorpos de origem imune clinicamente significantes (CASTILHO, 1996).

Pacientes portadores de insuficiência renal crônica, politransfundidos, em tratamento hemodialítico.

Em 1983 a incidência de anticorpos antieritrocitários em hemodialisados era de 1,73% (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993). A nossa prevalência foi 7%, semelhante à encontrada em outros trabalhos (8 %, excluídos os anti-N-"like" - FONSECA, 1995). As mulheres representam 72% do grupo com anticorpos e, apesar de não termos dados referentes à paridade, 60% são imunes (anti-D, -Kell), o que nos faz supor que neste grupo estão somadas as influências de antígenos fetais e transfundidos. Anti-D (em nosso trabalho 1,4%) tem sido encontrado em 0,27 a 0,56% de politransfundidos (MOLLISON, ENGELFRIET & CONTRERAS, 1993). Pacientes com doença renal podem desenvolver auto-anti- J_s^b causador de teste de antiglobulina direto positivo (DANIELS, 1995a). HOWELL & PERKINS, 1972, descreveram um anticorpo denominado anti-N-"like" ou anti-Nf em pacientes com insuficiência renal crônica submetidos a tratamento hemodialítico e que desapareceu após transplante renal. Trata-se de IgM produzida pela imunização com células alteradas pelo formaldeído usado na esterilização das membranas hemodialíticas. Anti-Nf reconhece determinantes

nitrogenados de GPA e GPB, sendo que o grupo amino da Leucina N-terminal foi modificado pelo formaldeído. Estes anticorpos seriam responsáveis pela rejeição de rim congelado. O formaldeído não é utilizado em nosso meio como agente antisséptico nas membranas hemodialíticas reaproveitáveis, portanto supomos que o anti-N encontrado não é o descrito, que incide em 21 a 27% dos pacientes (5,7% dos casos de FONSECA, 1995) expostos ao agente químico. Provavelmente se trata de anticorpo natural, pois reagiu fracamente nos testes realizados à temperatura ambiente e com albumina (1+ em ambos) e no painel somente a 4^o C (3+) após 10 minutos de incubação.

Não encontramos anticorpos múltiplos ou incomuns, que sugerem doença auto-imune subjacente (RAMSEY & SMIETANA, 1995).

Não encontramos nenhum exemplar de anti-Di^a presente em 3,6% de politransfundidos em população brasileira (ZAGO-NOVARETTI *et alii*, 1992) ou, segundo CASTILHO, 1996, em 3/312 amostras estudadas em pacientes hematológicos.

O estudo de anticorpos clinicamente significantes nesta população, que é potencialmente receptora de transplante renal, é de grande importância para o conhecimento dos mecanismos de imunização e deveria ser transfundida com doadores fenotipados também para o sistema Kell.

RESUMO

Estudamos a prevalência e especificidade de anticorpos antieritrocitários em transplantados renais, doadores de sangue e pacientes portadores de insuficiência renal crônica, hemodialisados e politransfundidos. Encontramos diferenças entre os grupos.

Os transplantados, compatíveis ABO/Rh com doador, apresentaram prevalência elevada em comparação com outros imunossuprimidos, tinham predominantemente anticorpos naturais, possivelmente devidos a estímulos bacterianos, e poderiam estar sendo estimulados pela imunossupressão. Os anticorpos de origem imune encontrados têm importância clínica transfusional e obstétrica. Auto-anticorpos, encontrados todos no subgrupo usando ciclosporina-A, fazem supor ação desta droga na formação de auto-imunidade.

Os doadores de sangue, com prevalência semelhante a de outros trabalhos descritos na literatura, mostraram equivalência entre anticorpos de origem natural e imune. A exposição a antígenos se deu possivelmente na gravidez, pois a maioria dos portadores de anticorpos imunes de nossa região é do sexo feminino e nenhum foi transfundido há menos de 10 anos.

Em hemodialisados, na sua maioria do sexo feminino, predominam os anticorpos imunes. Quanto ao anti-N encontrado, supomos não se tratar de anti-N-“like” ou -Nf, pelo fato de não ser utilizado formaldeído na assepsia das membranas hemodialíticas reutilizáveis.

Utilizando técnicas mais sensíveis e específicas poderemos aprofundar nossos conhecimentos sobre a resposta a antígenos de grupos sanguíneos em pessoas aparentemente saudáveis e imunossuprimidas, conforme as vias de sensibilização (transfusão ou gravidez).

CONCLUSÕES

Realizamos uma revisão de aspectos de biologia dos antígenos de grupos sanguíneos do ser humano e seus anticorpos de origem natural e imune.

A quantidade e a qualidade dos anticorpos antieritrocitários variam conforme a população estudada e a origem do estímulo antigênico. É importante o seu conhecimento devido à segurança transfusional, imunogenética e diferenças inter-raciais, mas também ao papel dos antígenos de grupos sanguíneos do ser humano em vários mecanismos fisiológicos e fisiopatológicos.

Utilizando técnicas mais sensíveis e específicas, poderíamos conhecer melhor as características dos antígenos e seus anticorpos em várias populações de pessoas saudáveis e imunossuprimidas sob diferentes formas de estimulação.

SUMMARY

A quite different pattern of antierythrocytic antibodies was found in kidney-transplant recipients, normal blood donors and chronic renal failure patients undergoing hemodialysis and multitransfused.

Kidney transplants with the same donor's ABO/Rh blood groups have low prevalence of antierythrocytic antibodies of immune type. As they are not transfused, may be exposed to fetal antigens during pregnancy. Natural antibodies could be raised by bacterial stimulus enhanced by immunosuppression. Autoantibodies were found in those receiving cyclosporin, perhaps as a feature of autoimmunity by the drug.

Normal blood donors have the same prevalence of natural and immune-type antibodies. Women predominate and as they were not transfused, pregnancy was the most probable stimulus again.

CRF patients in São José do Rio Preto are alloimmunized against red cell antigens less frequently than other studies and have no anti-N "like" or -Nf, as they are not exposed to formaldehyde. Women with antibodies of immune type predominate again, probably stimulated by fetal antigens.

More sensitive and specific methods will help us understand antierythrocytic antibodies production under exposure to blood group antigens in healthy and immunosuppressed people under different stimulus.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. & POBER, J. S.

Cellular and Molecular Immunology. 2 ed., Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1994, Cap. 3, p.33-64: Antibodies and Antigens; Cap. 5, p.96-114: The Major Histocompatibility Complex.

ABOU-ELELLA, A. A.; CAMARILLO, T. A.; ALLEN, M. B.; BARCLAY, S.; PIERCE, J. A.; HOLLAND, H. K.; WINGARD, J. R.; BRAU, R. A.; RODEY, G. E. & HILLYER, C. D.

Low incidence of red cell and HLA antibody formation by bone marrow transplant patients.

Transfusion, 35: 931-935, 1995.

ANGULO, I. L.

Observações pessoais, 1997.

ARCE, M. A.; THOMPSON, E. S.; WAGNER, S.; COYNE, K. E.; FERDMAN, B. A. & LUBLIN, D. M.

Molecular Cloning of RhD cDNA Derived From a Gene Present in RhD-Positive, But Not RhD-Negative Individuals.

Blood, 82, (2): 651-655, 1993.

BAILLY, P. & BOUHOURS, J-F.

P Blood Groups and related antigens. **In**: CARTRON, J-P & ROUGER, P. (ed.): *Blood Cell Biochemistry, volume 6: Molecular Basis of Human Blood Group Antigens*. New York and London: Plenum Press, 1995, Cap. 11, p. 300-330.

BECK, M. L.

ABO and H. **In**: ISSIT, L. A.; REID, M. & SOSLER, S. (ed.): *Blood Groups: Refresher and Update*. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1995, Cap. 2, p. 18-29.

BECK, M. L.; HAINES, R. F. & OBERMAN, H. A.

Unexpected finding following a lung homotransplantation. **In**: 24th Annual Meeting, Chicago, 1971. **Proceedings**, Chicago, American Association of Blood Banks, 1971, p.98. Abstracts.

BOREN, T.; FALK, P.; ROTH, K. A.; LARSON, G. & NORMARK, S.
Attachment of Helicobacter pylori to Human Gastric Epithelium Mediated by Blood Group Antigens.
Science, 262: 1892-1895, 1993.

BRANTLEY, S. G. & RAMSEY, G.
Red cell alloimmunization in multitransfused HLA-typed patients.
Transfusion, 28: 463-466, 1988.

BROWN, K. E.; ANDERSON, S. M. & YOUNG, N. S.
Erythrocyte P Antigen: Cellular Receptor for B19 Parvovirus.
Science, 262: 114-117, 1993.

BROWN, K. E.; HIBBS, J. R.; GALLINELLA, G.; ANDERSON, S. M.; LEHMAN, E. D.; McCARTHY, P. & YOUNG, N. S.
Resistance To Parvovirus B19 Infection Due To Lack Of Virus Receptor (Erythrocyte P Antigen).
N. Engl. j. med, 330: 1192-1196, 1994.

BRUCE, L. J.; GROVES, J. D.; OKUBO, Y.; THILAGANATHAN, B. & TANNER, J. A.
Altered Band 3 Structure and Function in Glycophorin A- and B- Deficient (M^k) Red Blood Cells.
Blood, 84, (3): 916-922, 1994.

BRUCE, L. J.; RING, S. M.; ANSTEE, D. J.; REID, M. E.; WILKINSON, S. & TANNER, M. J. A.
Changes in the Blood Group Wright Antigens Are Associated With a Mutation at Amino Acid 658 in Human Erythrocyte Band 3: A Site of Interaction Between Band 3 and Glycophorin A Under Certain Conditions.
Blood, 85, (2): 541-547, 1995.

CALHOUN, L. & PETZ, L. D.
Erythrocyte antigens and antibodies. **In**: BEUTLER, E.; LICHTMAN, M.A.; COLLIER, B. S. & KIPPS, T. J.: *Williams Hematology* . 5 ed., New York, McGraw-Hill, 1995, Cap. 148, p.1595-1610.

CARTRON, J.; BLESSON, S.; CELTON, J. L.; BERTH, J. P.; BROYER, M. & NIAUDET, P.
Hemolytic anemia after kidney transplantation.
Presse med, 23, (15): 707-709, 1994.

CASTILHO, L.

Avaliação de diferentes técnicas na detecção de anticorpos anti-eritrocitários em amostras de soros de referência, pacientes, gestantes e doadores voluntários de sangue. São Paulo, 1996. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina.

CHAUDHURI, A.; POLYAKOVA, J.; ZBRZEZNA, V. & POGO, A. O.

The Coding Sequence of Duffy Blood Group Gene in Humans and Simians: Restriction Fragment Length Polymorphism, Antibody and Malarial Parasite Specificities, and Expression in Nonerythroid Tissues in Duffy-Negative Individuals.

Blood, 85, (3): 615-621, 1995.

CHÉRIF-ZAHAR, B.; RAYNAL, V.; LE VAN KIM, C.; D'AMBROSIO, A-M.; BAILLY, P.; CARTRON, J-P. & COLIN, Y.

Structure and Expression of the RH Locus in the Rh-Deficiency Syndrome. *Blood*, 82, (2): 656-662, 1993.

COLIN, Y.; CHÉRIF-ZAHAR, B.; LE VAN KIM, C.; RAYNAL, V.; VAN HUFFEL, V. & CARTRON, J-P.

Genetic Basis of the RhD-Positive and RhD-Negative Blood Group Polymorphism as Determined by Southern Analysis.

Blood, 78, (10): 2747-2752, 1991.

COOMBS, R. R. A.; MOURANT, A. E. & RACE, R. R.

A new test for the detection of weak and "incomplete" Rh agglutinins.

Br. j. exp. pathol, 26: 255-266, 1945.

DANIELS, G.; KING, M-J; AVENT, N. D.; KHALID, G.; REID, M.; MALLISON, G.; SYMTHE, J. & CEDERGREN, B.

A Point Mutation in the GYPC Gene Results in the Expression of the Blood Group An^a Antigen on Glycophorin D But Not Glycophorin C: Further Evidence that Glycophorin D Is a Product of the GYPC Gene.

Blood, 82, (10): 3198-3203, 1993.

DANIELS, G.

Human Blood Groups. Blackwell Science, 1995a, Cap.2, p. 8-120: ABO, Hh, and Lewis Blood Group Systems.; Cap. 3, p. 121-226: MNS Blood Group System. ; Cap. 4, p. 227-256: P Blood Groups. Cap. 5, p. 257-355: Rh Blood Group System. ; Cap. 6, p. 356-384: Lutheran Blood Group System; Cap. 7, p. 385-420: Kell and Kx Blood Group Systems; Cap. 8, p. 421-439: Duffy Blood Group System; Cap. 9, p. 440-451: Kidd Blood Group System; Cap. 10, p. 452-465: Diego Blood Group System; Cap. 22, p. 605-625: Ii Antigens and Cold Agglutination; Cap. 28, p. 684-692: Chimeras ; Cap. 29, p. 693-717: Blood Group Gene Mapping.

DANIELS, G.

Kell, Lutheran, Colton. **In:** ISSIT, L. A.; REID, M. & SOSLER, S. (ed.): *Blood Groups: Refresher and Update*. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1995b, Cap. 4, p. 57-82.

FISHER, R. A.

Statistical Methods for Research Workers. Hafner Publishing Co., New York, 10th ed., 1948.

FONSECA, H. E. M.

Prevalência e especificidade de anticorpos eritrocitários em pacientes portadores de Insuficiência Renal Crônica em tratamento hemodialítico. São Paulo, 1995, 83 p., Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de medicina.

GARCIA LIMA, E. & BARBOSA, C. T. P.

Normas de apresentação bibliográfica, Lins, SP: Silcris Encadernações Com. Ind. Gráfica Ltda, 1994.

GARRATTY, G.

The Biological Role of Blood Groups. **In:** ISSIT, L. A.; REID, M. & SOSLER, S. (ed.): *Blood Groups: Refresher and Update*. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1995, Cap. 9, p. 138-149.

GARRATTY, G.; ARNDT, P.; CO, A.; RODBERG, K. & FURMANSKI, M.

Fatal hemolytic transfusion reaction resulting from ABO mistyping of a patient with acquired B antigen detectable only by some monoclonal anti-B reagents. *Transfusion*, 36: 351-357, 1996.

HOWELL, E. D. & PERKINS, H. A.

Anti-N-like antibodies in the sera of patients undergoing chronic hemodialysis.

Vox sang, 23: 291-299, 1972.

HOWS, J.; BEDDOW, K; GORDON-SMITH, E.; BRANCH, D. R.; SPRUCE, W.; SNIĘCINSKI, I.; KRANCE, R. A. & PETZ, L. A.

Donor-Derived Red Blood Cell Antibodies and Immune Hemolysis After Allogeneic Bone Marrow Transplantation.

Blood, 67,(1): 177-181, 1986.

HUANG, C-H.; REID, M. E. & CHEN, Y.

Identification of a Partial Internal Deletion in the RH Locus Causing the Human Erythrocyte D-- Phenotype.

Blood, 86, (2): 784-790, 1995.

HUANG, C-H.; REID, M. E.; XIE, S-S. & BLUMENFELD, O.O.

Human Red Blood Cell Wright Antigens: A Genetic and Evolutionary Perspective on Glycophorin A-Band 3 Interaction.

Blood, 87, (9): 3942-3947, 1996.

IBRAHIM, S.; JAKOBS, F.; KITTUR, D.; HESS, A.; LINSLEY, P. S.; SANFILIPPO, F. & BALDWIN III, W. M.

CTLA4Ig Inhibits Alloantibody Responses to Repeated Blood Transfusions.

Blood, 88, (12): 4594-4600, 1996.

INTERNATIONAL SERIALS DATA SYSTEM & INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION.

Liste de abreviations de mots des titres de publications en série. List of serial title word abbreviations. Paris, ISDS, Genève, ISO, 1985. 215 p.

ISSIT, L. A.

Blood Group Nomenclature. **In:** ISSIT, L. A.; REID, M. & SOSLER, S. (ed.): *Blood Groups: Refresher and Update*. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1995, Cap. 1, p. 1-17.

ISSIT, P. D.

Applied Blood Group Serology. 3 ed., Miami, Montgomery Scientific Publications, 1985, Cap. 5, p. 116-131: A general introduction to blood group antibodies, genes in man and the red cell membrane, ; Cap. 28, p. 611-35: In the beginning there was

A and B ... now there are 632 known red cell antigens and characters (but see chapter 30 for 9 more) .

ISSIT, P. D.

Rh and LW. **In:** ISSIT, L. A.; REID, M. & SOSLER, S. (ed.): *Blood Groups: Refresher and Update*. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1995, Cap. 3, p. 30-56.

ISSIT, P. D. ; COMBS, M. R. ; BUMGARNER, D. J. ; ALLEN, J.; KIRKLAND, A. & MELROY-CARAWAN, H.

Studies of antibodies in the sera of patients who have made red cell autoantibodies. *Transfusion*, 36, (6): 481-486, 1996.

JANTAUSCH, B. A.; CRISS, V. R.; O'DONNELL, R.; WIEDERMANN, B. L.; MAJD, M.; RUSHTON, H. G.; SHIREY, S. & LUBAN, N. L. C.

Association of Lewis blood group phenotypes with urinary tract infection in children.

J. pediatr, 124: 863-868, 1994.

JAROLIN, P.; RUBIN, H. L. & MOULDS, J. M.

Molecular Characterization Of The Diego Blood Group Antigens.

Blood, 84 (suppl 1): 237a, 1994. Abstract .

LEE, S.; WU, X.; REID, M.; ZELINSKI, T. & REDMAN, C.

Molecular Basis of the Kell (K1) Phenotype.

Blood, 85, (4): 912-916, 1995a.

LEE, S.; ZAMBAS, E.; GREEN, E. D. & REDMAN, C.

Organization of the Gene Encoding the Human Kell Blood Group Protein. *Blood*, 85, (5): 1364-1370, 1995b.

LEE, S.

Molecular Basis of the Kell Blood Group Phenotypes.

Vox sang, 73: 1-11, 1997.

LUBLIN, D. M.

Functional Roles of Blood Group Antigens. **In:** SILBERSTEIN, L. E. (ed.): *Molecular and Functional Aspects of Blood Group Antigens*. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1995, Cap. 5, p. 163-192.

LUBLIN, D.M.; MALLINSON, G.; POOLE, J.; REID, M. E.; THOMPSON, E. S.; FERDMAN, B. R.; TELEN, M. J.; ANSTEE, D. J. & TANNER, M. J. A.

Molecular Basis of Reduced or Absent Expression of Decay-Accelerating Factor in Cromer Blood Group Phenotypes.

Blood, 84, (4): 1276-1282, 1994.

MILLER, L. H.; GOOD, M. F. & MILON, G.

Malaria Pathogenesis.

Science, 264: 1878-1883, 1994.

MINAKUCHI, J.; TOMA, H.; TAKAHASHI, K. & OTA, K.

Autoanti-A and -B Antibody Induced by ABO Unmatched Blood Group Kidney Allograft.

Transplant. proc, XVII, (6): 2297-2300, 1985.

MOLLISON, P. L.; ENGELFRIET, C.P. & CONTRERAS, M.

Blood Transfusion in Clinical Medicine. 9 ed., London, Blakwell Scientific Publications, 1993, Cap. 3: Immunology of Red Cells, p. 76-147.

MOULDS, J. E.

Chido, Rodgers, Knops (Complement Associated). **In**: ISSIT, L. A.; REID, M. & SOSLER, S. (ed.): *Blood Groups: Refresher and Update*. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1995, Cap. 8, p. 125-137.

MOULDS, J. M.; NOWICKI, S.; MOULDS, J. J. & NOWICKI, B. J. Human blood groups: incidental receptors for viruses and bacteria. *Transfusion* 36, (4): 362-374, 1996.

NAGATSUKA, Y; WATARAI, S.; YASUDA, T.; HIGASHI, H.; YAMAGATA, T. & ONO, Y.

Production of human monoclonal antibodies to i blood group by EBV-induced transformation: possible presence of a new glycolipid in cord red cell membranes and human hematopoietic cell lines.

Immunol. lett, 46 (1-2): 93-100, 1995.

NEMER, W. El; RAHUEL, C.; COLIN, Y.; GANE, P.; CARTRON, J-P & LE VAN KIM, C.

Organization of the Human *LU* Gene and Molecular Basis of the Lu^a / Lu^b Blood Group Polymorphism.

Blood, 89 (12): 4608-4616, 1997

NEOTE, K.; MAK, J. Y.; KOLAKOWSKI Jr, L. F. & SCHALL, T. J.
Functional and Biochemical Analysis of the Cloned Duffy Antigen: Identity With the Red Blood Cell Chemokine Receptor.

Blood, 84, (1): 44-52, 1994

OGASAWARA, K.; YABE, R.; UCHIKAWA, M.; SAITOU, N.; BANNAI, M.; NAKATA, K.; TAKENAKA, M.; FUJISAWA, K.; ISHIKAWA, Y.; JUJI, T. & TOKUNAGA, K.

Molecular Genetic Analysis of Variant Phenotypes of the ABO Blood Group System.

Blood, 88, (7): 2732-2737, 1996.

PALATNIK, M.

Distribuição dos grupos sanguíneos em populações urbanas e rurais do Brasil. **In:** LIMA, L. M. A.; CALLADO, M. R. M. & SANTOS, J. A.: *Curso de Imunohematologia*. Divisão Hemocentro. Faculdade de Medicina. Campus de Botucatu. UNESP, 1992, p. 97-114.

PEARSON, K.

On the Theory of Contingency and Its Relation to Association and normal Correlation. Droper's Company Research Memoirs. Londres, 1904.

PETZ, L. D.: The expanding boundaries of transfusion medicine. **In** Nance, S. J. (ed.). *Clinical and Basic Science Aspects of Immunohematology*. Arlington, American Association of Blood Banks, 1991. Cap. 4, p. 73-113.

RAMSEY, G.

Red Cell antibodies arising from solid organ transplants.

Transfusion, 31: 76-86, 1991.

RAMSEY, G. & SMIETANA, S. J.

Multiple or uncommon red cell alloantibodies in women: association with autoimmune disease.

Transfusion, 35, (70): 582-586, 1995.

RAO, N.; WHITSETT, C. F.; OXENDINE, S. M. & TELEN, M. J.

Human Erythrocyte Acetylcholinesterase Bears the Yt^a Blood Group Antigen and Is Reduced or Absent in the Yt(a-b-) Phenotype.

Blood, 81, (3): 815-819, 1993.

REDMAN, C. M. & MARSH, W. L.

The Kell Blood Group System and the McLeod Phenotype.
Sem. Hematol, 30, (3): 209-218, 1993.

REID, M. E.

Molecular basis for blood groups and function of carrier proteins. **In**: SILBERSTEIN, L. E. (ed.): *Molecular and Functional Aspects of Blood Group Antigens*. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1995a, Cap. 3, p.75-125.

REID, M. E.

MNSs, Gerbich, Wright/Diego. **In**: ISSIT, L. A.; REID, M. & SOSLER, S. (ed.): *Blood Groups: Refresher and Update*. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1995b, Cap. 5, p. 83-96.

ROBERTSON, V.; HILL, M.; BRYANT, J. & DICKSON, L.

Anti-Jk^b positive recipient following T-cell depleted bone marrow transplant.
Transfusion, 27: 525, 1987. Abstract.

RUSSO, D. C. W.; LEE, S.; REID, M. & REDMAN, C. M.

Topology of Kell Blood Group Protein and Expression of Multiple Antigens by Transfected cells.
Blood, 84, (10): 3518-3523, 1994.

SCHOFIELD, A.E.; MARTIN, P.G.; SPILLET, D. & TANNER, M.J. A.

The Structure of the Human Red Blood Cell Anion Exchanger (EPB3, AE1, Band 3) Gene.
Blood, 84, (6): 2000-2012, 1994.

SCHREIBER, S. L. & CRABTREE, G. R.

The mechanism of action of cyclosporin A and FK506.
Immunol. today, 13, (4): 136-142, 1992.

SCHWARTZ, R. S.

Autoimmunity and Autoimmune Diseases. **In**: PAUL, W. E. (ed.): *Fundamental Immunology*, 3 ed., New York, Raven Press, 1993, Cap. 30, p. 1033-1097.

SHEVACH, E. M.

The Effects of Cyclosporin A on the Immune System.
Annu. rev. immunol, 3: 397-423, 1985.

SILBERSTEIN, L. E.

The Antibody Response to Antigen. **In:** NANCE, S. T. (ed.): *Alloimmunity: 1993 and Beyond*. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1993. Cap. 2, p. 25-47.

SMITH, B. L. & AGRE, P.

The Erythrocyte Membrane Skeleton: Site of the Molecular Defects of Congenital Anemias and the Rh Antigens. **In:** MORE, S. B. (ed.): *Progress in Immunohematology*. Arlington, VA: American Association of Blood Banks, 1988. Cap. 5, p. 119-139.

SOSLER, S. D.

Kidd and Duffy. **In:** ISSIT, L. A.; REID, M. & SOSLER, S. (ed.): *Blood Groups: Refresher and Update*. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1995, Cap. 7, p. 112-124.

SOUNIS, E.

Bioestatística. Princípios Fundamentais. Metodologia Estatística. Aplicação às Ciências Biológicas. SP, McGraw-Hill do Brasil Ltda, 1976. Cap. 14, p. 153-168: Testes de Significância.

SWANSON, J.; SASTAMOINEN, R.; SEBRING, E. & CHOPEK, M.

Rh and Kell Alloantibodies of Probable Donor Origin Produced After Solid Organ Transplantation.

Transfusion, 25, (5): 467, 1985.

SWANSON, J.; SEBRING, E.; SASTAMOINEN, R. & CHOPEK, M.

Gm Allotyping to Determine the Origin of the Anti-D Causing Hemolytic Anemia in a Kidney Transplant Recipient.

Vox sang, 52: 228-230, 1987.

SZABO, M. C.; SOO, K. S.; ZLOTNIK, A. & SCHALL, T. J. Chemokine class differences in binding to the Duffy antigen-erythrocyte chemokine receptor.

J. biol. chem, 270, (43): 25348-25351, 1995.

TANNER, M. J. A.

Molecular and Cellular Biology of the Erythrocyte Anion Exchanger (AE1). *Sem. hematol*, 30, (1): 34-57, 1993.

TELEN, M. J.

Erythrocyte Blood Group Antigens: Not So Simple After All.

Blood, 85, (2): 299-306, 1995a.

TELEN, M. J.

Cartwright, JMH, Cromer, Dombrock (GPI Linked). **In:** ISSIT, L. A.; REID, M. & SOSLER, S. (ed.): *Blood Groups: Refresher and Update*. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1995b, Cap. 6, p. 97-111.

TELEN, M. J.

Erythrocyte Blood Group Antigens: Polymorphisms of Functionally Important Molecules.

Sem. hematol, 33, (4): p. 302-314, 1996.

TELEN, M. J.; LE VAN KIM, C.; CHUNG, A.; CARTRON, J-P. & COLIN, Y.

Molecular Basis for Elliptocytosis Associated With Glycophorin C and D Deficiency in the Leach Phenotype.

Blood, 78, (6): 1603-1606, 1991.

TELEN, M. J.; RAO, N.; UDANI, M.; THOMPSON, E. S.; KAUFMAN, R. M. & LUBLIN, D. M.

Molecular Mapping of the Cromer Blood Group Cr^a and Tc^a Epitopes of Decay Accelerating Factor: Toward the Use of Recombinant Antigens in Immunohematology.

Blood, 84, (9): 3205-3211, 1994.

WALKER, R. H. (ed).

Technical Manual. 11 ed., Bethesda, American Association of Blood Banks, 1993, Cap. 10. p. 203-228: ABO, H and P Blood Groups and Structurally Related Antigens. Cap. 11. p. 229-258: Rh and LW Blood Groups. Cap. 12. p. 259-285: Other Blood Groups. Cap. 13. p. 287-308: The HLA System. Methods 3. Antibody Detection and compatibility Testing. 3.1. Antiglobulin Tests. p. 639. 3.6. Direct Antiglobulin Test. p. 647.

WILCOXON, F.

Individual comparisons by ranking methods.

Biometrics, 1: 80-83, 1945.

YAMAMOTO, F; CLAUSEN, H.; WHITE, T.; MARKEN, J. & HAKOMORI, S.

Molecular genetic basis of the histo-blood ABO system.

Nature, 345: 229-233, 1990.

ZAGO-NOVARETTI, M. C.; SOARES, M. O. C.; DORLHIAC-LLACER, P. E. & CHAMONE, D. A. F.

Anti-Diego in multitransfused patients.

Rev Paulista med, 110 ,(5): 1H52, 1992. Abstract.

ZELINSKI, T.

Chromosomal Localization of Human Blood Group Genes. **In:** SILBERSTEIN, L. E. (ed.): *Molecular and Functional Aspects of Blood Group Antigens*. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1995, Cap. 2, p. 41-73.

ZHU, A.; LENG, L.; MONAHAN, C.; ZHANG, Z.; HURST, R.; LENNY, L. & GOLDSTEIN, J.

Characterization of recombinant alpha-galactosidase for use in seroconversion from blood group B to O of human erythrocytes.

Arch. biochem. biophys, 327,(2): 324-329, 1996.

ERRATA

À página 42, onde se lê *pilori*, leia-se *pylori*.

À página 48, primeiro parágrafo, linhas 9 e 10, onde se lê **-P**, leia-se **-P^k** e **-P1**, respectivamente.

À página 50, onde se lê **Forssman**, leia-se **Forsmann**.