

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS**  
**FUNDAÇÃO HOSPITALAR DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO**  
**AMAZONAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À**  
**HEMATOLOGIA**

**AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS LABORATORIAIS DA ALOIMUNIZAÇÃO**  
**ERITROCITÁRIA EM PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME DA FUNDAÇÃO**  
**HOSPITALAR DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO ESTADO DO**  
**AMAZONAS - FHEMOAM**

**Pollyana Acordi Cabete Lins**

**MANAUS**

**2017**

**AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS LABORATORIAIS DA ALOIMUNIZAÇÃO  
ERITROCITÁRIA EM PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME DA FUNDAÇÃO  
HOSPITALAR DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO ESTADO DO  
AMAZONAS - FHEMOAM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia da Universidade do Estado do Amazonas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Hematologia.

**Orientador:** Prof. Dr. Nelson Abrahim Fraiji

**MANAUS**

**2017**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por todo amor e força que ele me proporcionou.

Aos meus pais Rosângela Acordi e Camilo Flamarion por todo amor, educação, força, apoio e compreensão ao longo de toda minha vida.

Ao meu esposo Leandro Loureiro que me compreendeu em todos os momentos de dificuldades.

Em especial ao Dr. Nelson Fraiji e ao Dr. Erich Vinicius de Paula, meu orientador e co-orientador, pela paciência, apoio, acreditação, humildade e todos os ensinamentos sobre o amor pela ciência, que para mim transmitiram.

Em especial à Katiane Gomes por toda sua dedicação e por ter estado ao meu lado neste trabalho quando mais tive dificuldades.

Em especial a Dra Adriana Malheiro, a Dra Anamika Dhyani e a Wilmara pela compreensão e suporte durante o desenvolvimento do curso.

Em especial ao Dr. Sérgio Albuquerque pelo apoio e disponibilidade para realização das atividades.

Aos meus amigos de turma Aline Jamel, Hellen Albuquerque, Emerson Almeida, Luiz Schwade, Marcelo Reis, Purim Cesar e Ygor Figueiredo por todos os momentos inesquecíveis que vivemos juntos nesta jornada.

A professora Dra. Alessandra de Souza, por ter me orientado no estágio e docência e ter me proporcionado ampliação do conhecimento.

Ao enfermeiro Evilázio e a bibliotecária Cristina pelo apoio.

Aos colaboradores do laboratório de Imunohematologia e aos colaboradores do Same.

À Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas, por me dar a oportunidade de desenvolver este trabalho. À CAPES pelo investimento de recursos.

À Universidade do Estado do Amazonas, por esta formação acadêmica.

Ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada e a todos os seus integrantes, pela concretização deste trabalho. E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para concretização deste sonho.

## RESUMO CIENTÍFICO

**Introdução:** A doença falciforme (DF) hoje é uma das principais doenças hereditárias, com distribuição global. Decorre de uma mutação no gene da beta globina, no qual resulta na produção de uma variante de hemoglobina que sofre polimerização em situações em que há redução na tensão de oxigênio. Portanto, os objetivos básicos da terapia da DF são a prevenção de complicações e o tratamento clínico. Apesar disso, a terapêutica transfusional de concentrados de hemácias é uma das estratégias usadas neste tratamento, de modo que muitos pacientes com DF apresentam um amplo histórico transfusional, o que resulta em diversas complicações. Dentre elas, destaca-se a aloimunização, que consiste no desenvolvimento de aloanticorpos contra antígenos eritrocitários presentes nas hemácias dos doadores. **Objetivo:** Elaboramos este estudo para descrever as características laboratoriais da aloimunização eritrocitária em pacientes com DF acompanhados na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas. **Materiais e Métodos:** Estudamos pacientes falciformes atendidos no Hemocentro do Amazonas nos quais foram avaliados os achados clínicos quanto ao número de transfusão, pesquisa de anticorpo irregular e identificação de anticorpos. **Resultado:** Foram estudados 163 pacientes, nos quais foram encontrados 27 pacientes com aloanticorpos, dirigidos contra 12 antígenos, sendo os mais prevalentes os dirigidos contra o sistema Rhesus e Kell e ainda contra o sistema Di<sup>a</sup>, quanto ao número de transfusão observou-se um número maior de aloimunização nos pacientes que apresentavam maior número de transfusão. **Conclusão:** Diante dos resultados apresentados podemos inferir que a terapia transfusional está diretamente ligada com o processo de aloimunização, e ainda que os mesmos estão concordantes com outros estudos, os dados neste estudo serão de grande valor na orientação clínica e laboratorial, afim de promover segurança na terapia transfusional.

**Palavras-chave:** doença falciforme, aloimunização, transfusões, imunohematologia.

## ABSTRACT

**Introduction:** Sickle cell disease (SCD) is now one of the major inherited diseases, with global distribution. SCD is caused by a mutation in the beta globin gene, which results in the production of a hemoglobin variant undergoing polymerization in situations where there is a reduction in oxygen tension. This hemoglobin polymerization triggers a complex cascade of pathophysiological events that results in a multisystem inflammatory process, characteristic of SCD. From the clinical point of view, vasoconstrictive seizures and chronic hemolysis are the most important characteristics of this condition. Therefore, the basic goals of DF therapy are the treatment and prevention of complications. Among the complications of transfusions, we highlight alloimmunization, which consists of the development of alloantibodies against erythrocyte antigens present in donor red blood cells. **Objective**The present study was undertaken to describe laboratory characteristics of the erythrocyte alloimmunization in patients with SCD attending Hematology and Hemotherapy Foundation (HEMOAM), Amazonas. **Materilas and methods:** The study included SCD patients attending HEMOAM and evaluation was based on the clinical findings such as number of transfusions, presence of irregular antibodies and identification of antibodies. **Results:** A total of 163 patients were studied, among which 27 patients were found with alloantibodies directed against 12 antigens, the most prevalent ones were directed against the Rhesus and Kell system and also against the Di<sup>a</sup> system. As for the number of transfusions, there was a greater number of alloimmunization in patients with higher number of transfusions. **Conclusions:** Based on the results of the present study we can infer that the transfusion therapy is connected directly with the process of alloimmunization. Although our results are similar to other previous studies, the data obtained in this study will be of great value in clinical and laboratorial orientation in order to promote safety in transfusion therapy.

**Key words:** sickle cell disease, alloimmunization, transfusion, immunohematology.

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>Sigla</b>	<b>Abreviaturas</b>
%	Porcentagem
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
A	Adenina
ABO	Sistema ABO
anti	Anticorpo
AVC	Acidente vascular
AVCi	Acidente vascular isquêmico
BEN	Benin
CAR	República Centro Africana
CSSCD	The cooperative study of sickle cell disease
DF	Doença Falciforme
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
FDA	Food and Drug Administration
Fy <sup>a</sup>	Fenótipo Fy <sup>a</sup>
Fy <sup>b</sup>	Fenótipo Fy <sup>b</sup>
Hb	Hemoglobina
HbC	Hemoglobina C
HbF	Hemoglobina fetal
HbS	Hemoglobina S
HLA	Antígeno Leucocitário de Histocompatibilidade
ISBT	International Society of Blood Transfusion
MS	Ministério da saúde
PAI	Pesquisa de anticorpo irregular
Rh	Sistema Rh
RT	Reação transfusional
RhD	Antígeno RhD
SAME	Serviço de arquivo médico estatístico
SC	Notação da hemoglobina da doença falciforme associada à hemoglobinopatia C
SS	Notação da hemoglobina da doença falciforme associada à hemoglobinopatia S
S $\beta$	Notação da hemoglobina da doença falciforme associada à talassemia beta
T	Timina
TAD	Teste de antiglobulina direto
TRALI	Lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Estrutura da Hemoglobina .....	11
<b>Figura 2.</b> Inserção dos antígenos de grupos sanguíneos na membrana Eritrocitária.....	19
<b>Figura 3.</b> Fluxograma de coleta de dados do estudo.....	28
<b>Figura 4.</b> Distribuição por sexo.....	30
<b>Figura 5.</b> Frequência de transfusões.....	32
<b>Figura 6.</b> Frequência de aloimunização.....	35
<b>Figura 7.</b> Impacto do número de transfusões sobre a aloimunização.....	36

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Distribuição da população do estudo quanto ao ano de nascimento.....	30
<b>Tabela 2.</b> Classificação da DF.....	31
<b>Tabela 3.</b> Sistemas ABO e RhD na população do estudo.....	31
<b>Tabela 4.</b> Frequência de transfusões na população do estudo.....	32
<b>Tabela 5.</b> Fenotipagem da população do estudo e de doadores regulares da FHEMOAM.....	33
<b>Tabela 6.</b> Fenotipagem da população do estudo e de doadores regulares da FHEMOAM.....	34
<b>Tabela 7.</b> Frequência de aloanticorpos por paciente aloimunizado.....	37
<b>Tabela 8.</b> Aloanticorpos identificados na população de estudo.....	37
<b>Tabela 9.</b> Resultados comparativos do Sistemas ABO e RhD.....	40



## SUMÁRIO

<b>RESUMO CIENTÍFICO.....</b>	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>V</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>VI</b>
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>1.1. Anemia Falciforme: aspectos gerais.....</b>	<b>11</b>
1.1.1. Definição e fisiopatologia.....	11
1.1.2. Apresentação clínica e complicações.....	12
1.1.3. Importância epidemiológica.....	13
<b>1.2. Anemia Falciforme: tratamento.....</b>	<b>13</b>
<b>1.3. Terapia transfusional na anemia falciforme.....</b>	<b>14</b>
<b>1.4. Aloimunização secundária a transfusão de sangue.....</b>	<b>15</b>
<b>1.5. Os Grupos Sanguíneos.....</b>	<b>17</b>
1.5.1. Sistema ABO.....	18
1.5.2. Sistema Rh.....	18
1.5.3. Outros sistemas.....	18
<b>1.6. O problema da aloimunização na doença falciforme.....</b>	<b>19</b>
<b>1.7. Variabilidade genética no Amazonas e seu impacto potencial na aloimunização.....</b>	<b>21</b>
<b>1.8. Hemoterapia no Amazonas.....</b>	<b>23</b>

<b>2.JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>24</b>
<b>3.OBJETIVOS.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1 Objetivo geral.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2 Objetivos Específicos.....</b>	<b>24</b>
<b>4.CASUÍSTICA E MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
<b>5.RESULTADOS.....</b>	<b>30</b>
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>7.CONCLUSÕES.....</b>	<b>44</b>
<b>8. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>45</b>
<b>9. ANEXOS.....</b>	<b>52</b>
<b>9.1. Ficha de coleta de dados.....</b>	<b>52</b>

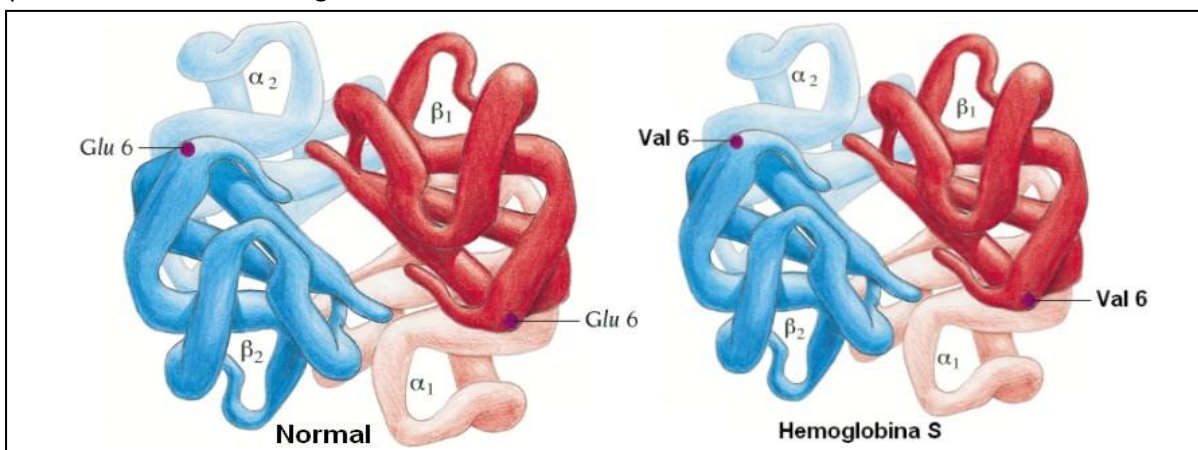
## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Anemia Falciforme: aspectos gerais

#### 1.1.1. Definição e fisiopatologia

O eritrócito é constituído essencialmente por uma membrana celular, enzimas e a hemoglobina, formando uma estrutura metabólica extremamente complexa. A hemoglobina é a principal proteína componente do eritrócito, e é composta por duas cadeias proteicas  $\alpha$ , e duas cadeias  $\beta$ . Este tetrâmero possui em seu interior o elemento prostético heme, que contém um átomo de Ferro (figura 1). A integridade do tetrâmero de hemoglobina é crítica para sua capacidade de transporte de oxigênio para os tecidos, que é a função fundamental das hemácias. Alterações na estrutura da hemoglobina, as chamadas hemoglobinopatias, modificam sua função, e apresentam consequências clínicas significativas. Dentre as diversas hemoglobinopatias, a doença falciforme (DF) é a forma mais comum (Rees., 2010).

**Figura 1.** Estrutura da molécula de hemoglobina com os pontos de substituição do ácido glutâmico por valina na posição 6 da cadeia  $\beta$  globínica, modificando a molécula de hemoglobina A para a molécula de Hemoglobina S.



Fonte: (Branden, 1999).

A primeira descrição da DF data de 1910, quando Herrick descreveu a característica alongada e em forma de foice do eritrócito de um indivíduo anêmico de origem africana. Já em 1949 Pauling *et al.* demonstrou a associação entre alterações bioquímicas da hemoglobina com a clínica de DF, caracterizando-a como a primeira "Doença molecular" (Pauling et al., 1949). Sabe-se hoje que as alterações bioquímicas da DF decorrem da presença de uma hemoglobina variante, conhecida como HbS. A HbS é causada por uma mutação no gene da globina  $\beta$ , com a substituição da adenina (A) por uma timina (T) (GAG→GTC). Essa transformação resulta na substituição do resíduo ácido glutâmico na posição  $\beta 6$  por um resíduo valina ( $\beta 6\text{Glu}\rightarrow\text{Val}$ ), alterando as propriedades físico-químicas da hemoglobina.

Quando em sua forma desoxigenada, a HbS polimeriza-se, alterando a arquitetura e a flexibilidade dos eritrócitos. A polimerização da HbS é o fenômeno fundamental da patogenia da doença falciforme (ZAGO., 2014), pois resulta em alterações na membrana da hemácia e hemólise crônica, que são conjuntamente responsáveis pela cascata de eventos fisiopatológicos observada na DF. Do ponto de vista molecular, a DF só se manifesta quando o indivíduo apresenta a mutação em homozigose, ou em associação a outras hemoglobinopatias (dupla heterozigose com outras hemoglobinopatias como a HbC ou a talassemia beta). Indivíduos portadores da mutação causadora da HbS em homozigose apresentam anemia falciforme, ao passo que os portadores desta mutação associada a outras hemoglobinopatias são alocados no grupo conhecido como DF. Indivíduos que apresentam a mutação da HbS em heterozigose são chamados de portadores de traço falciforme, e não apresentam complicações clínicas ou alterações laboratoriais relevantes (MS., 2013).

Do ponto de vista fisiopatológico, as alterações da membrana da hemácia decorrentes da polimerização da hemoglobina, e a hemólise crônica ativam uma série de vias celulares que culminam em um estado inflamatório crônico, responsável pela lesão tecidual progressiva característica da DF, intercalada com períodos de agudização. (Steinberg.,2008).

### 1.1.2. Apresentação clínica e complicações

Na medida em que a DF decorre da presença da HbS, a doença não se manifesta na vida intra-uterina ou no período neonatal, uma vez que até o 6º mês de

idade, a Hb fetal (que não possui cadeias  $\beta$ ) predomina sobre a hemoglobina A (composta por estas cadeias) (Yazdanbakhsh et al., 2012). De forma resumida, as manifestações clínicas da DF incluem crises relacionadas à vasclusão, e eventos relacionados à hemólise crônica. No primeiro grupo, estão incluídos entre outros as crises de dor (por micro infartos na medula óssea de ossos longos e em outros pontos da microcirculação), a síndrome torácica aguda, os acidentes vasculares isquêmicos cerebrais (AVCi), a necrose avascular da cabeça de fêmur, e a retinopatia proliferativa, decorrente de hipóxia local. No segundo grupo estão incluídos a hipertensão pulmonar, decorrente da depleção de óxido nítrico associada à hemólise crônica, as trombozes venosas profundas, e a anemia (Zago., 2014).

### 1.1.3. Importância epidemiológica

Do ponto de vista epidemiológico, a mutação responsável pela formação da HbS teve origem no continente africano, mas atualmente apresenta distribuição global, proporcional ao contingente migratório de africanos para diversas regiões do planeta. No Brasil, a DF é mais frequente nas regiões onde indivíduos afrodescendentes são mais representativos na população com destaque para a Bahia. De acordo com o Programa Nacional de Triagem Neonatal, a frequência de nascidos vivos com DF no Brasil é de aproximadamente 1:3.000, variando em 1:650 no Estado da Bahia e 1:13.500 no Estado de Santa Catarina e Paraná. E a frequência de pessoas apenas com o traço da DF no Brasil é de 1:35, com incidência de 1:17 na Bahia e 1:65 no Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina. (MS., 2013). Nos últimos anos, a melhoria da assistência a pacientes com DF através de medidas simples reduziu a mortalidade nos primeiros anos de vida, e resultou em aumento da sobrevivência destes pacientes. Com isso, a prevalência desta condição vem aumentando na população, colocando a DF como um dos grandes desafios para as políticas públicas de saúde. Um estudo recente que estimou o impacto da DF na população até 2050, estima-se que nascerão 222.785 novos casos de DF mundialmente (Piel et al., 2013). Por isso, a DF integra a Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da População Negra, do Ministério da Saúde (MS., 2013).

## 1.2. Anemia Falciforme: tratamento

A complexidade da fisiopatologia da DF, e a ausência de um alvo terapêutico específico, limitam as opções terapêuticas ao tratamento de suporte, transfusões e hidroxiuréia. O tratamento de suporte tem como melhor exemplo o uso de penicilina até os 5 anos para prevenção de infecções por germes encapsulados em decorrência da autoesplenectomia. A partir de um estudo clínico realizado na década de 1980, este tratamento tornou-se padrão para estes pacientes (Gaston et al., 1986). Medidas gerais de higiene, manejo de infecções e controle de comorbidades também contribuem sobremaneira para o tratamento destes pacientes.

Em relação a drogas, a hidroxiuréia é o único medicamento licenciado especificamente para uso na DF. A partir de 1995, ela tornou-se o primeiro medicamento agente comprovadamente capaz de prevenir as complicações da DF. Seu mecanismo de ação clássico está relacionado ao aumento da Hb fetal (HbF), que por não possuir cadeias  $\beta$ , não está alterada na DF. O aumento da HbF reduz proporcionalmente a HbS no eritrócito, resultando em redução da polimerização, e melhora do quadro clínico. Mas recentemente, mostrou-se que a hidroxiureia tem efeitos heterogêneos, atuando também como anti-inflamatório e modulador do metabolismo (Wong et al., 2014).

Outro elemento importante no tratamento da DF é o suporte para a dor. Pessoas com DF com dor devem ser avaliadas imediatamente para a detecção de complicações mais graves, e medicadas com agressividade com analgésicos. No caso de dores leves geralmente ofertam-se analgésicos e aumento da ingestão hídrica com avaliação no dia posterior. No caso de dores agudas como abdominais, lombares ou torácicas, as pacientes devem ser internados para observação mais detalhadas, sendo frequentemente necessário o uso de outras medidas (Rees et al., 2010).

## 1.3. Terapia transfusional na anemia falciforme

A anemia por si só, não é indicativa de transfusão de sangue na DF, já que essas pessoas estão relativamente adaptadas a níveis baixos de hemoglobina. As transfusões são necessárias somente em circunstâncias especiais, tais como crises

de sequestro, crise aplásica, crise hiper-hemolítica acidente vascular cerebral, nos períodos pré-operatórios, em pacientes com síndrome torácica aguda e priapismo. (Zago., 2014). Cabe destacar que os concentrados de hemácias devem ser de preferência desleucotizados, para prevenção de reações febris, e fenotipados para os principais antígenos eritrocitários. (Pirenne., 2013). De fato, estudos observacionais e ensaios clínicos, randomizados já demonstraram que as transfusões de concentrados de hemácias podem sim atenuar ou prevenir muitas complicações da DF (Detterich et al.,2013). Deste modo, as indicações para transfusão nestes pacientes têm aumentado significativamente. Pesquisas estimam que em algumas populações cerca de 90% desses adultos receberam pelo menos uma transfusão de concentrado de hemácias durante a vida (Vermylen., 2013).

Há casos em que a terapia transfusional é indispensável, como, por exemplo, nos casos de Síndrome Torácica Aguda e principalmente o acidente vascular cerebral (AVC), que é a principal causa de morbidade em longo prazo em indivíduos com DF, afetando aproximadamente 10% dos pacientes antes de 20 anos de idade sem terapia preventiva. (Chou., 2013). De fato, a prevenção primária e secundária do AVC é a situação em que o uso de transfusões foi melhor estudado na DF. Como no caso do diagnóstico precoce da vasculopatia cerebral, onde o regime de transfusão crônica é recomendado para crianças com DF que, através da triagem com o Doppler transcraniano apresentem velocidades das artérias cerebrais medias direita e esquerda anormal ( $>200$  cm / seg), como demonstrado no estudo STOP (Adams et al., 1998). Com a implementação desse protocolo, a incidência de AVC cai drasticamente, evidenciando a importância do rastreamento ultra-sonográfico de hiperfluxo das artérias cerebrais nestes pacientes. A partir dessa triagem de baixo custo, o início de um programa regular de transfusão com o objetivo de manter HbS abaixo de 30% leva à diminuição de aproximadamente 90% dos AVC na infância. (Wang & Dwan., 2013).

#### **1.4. Aloimunização secundária a transfusão de sangue**

Apesar dos benefícios indiscutíveis da terapia transfusional, todos os riscos inerentes a este procedimento devem ser avaliados antes de sua adoção. Mesmo com o avanço da medicina transfusional, transfusões de concentrados de hemácias ainda estão associados a reações transfusionais, transmissão de patógenos,

sobrecarga de ferro, sobrecarga volêmica, lesão pulmonar (TRALI) e, mais frequentemente, aloimunização. (Spahn et al., 2015).

No entanto, a aloimunização por transfusão sanguínea consiste na produção de aloanticorpos, que são anticorpos produzidos contra antígenos reconhecidos como “não próprios” ao indivíduo, mas provenientes de indivíduos da mesma espécie.

A aloimunização em relação a alguns sistemas de grupos sanguíneos continua a ser um grande desafio na terapia transfusional, especialmente em pacientes submetidos a transfusão crônica, os quais são expostos a um pool maior de doadores e, conseqüentemente, de antígenos. (Matteocci & Pierelli., 2014).

A conseqüência imediata mais temida da aloimunização são as reações hemolíticas transfusionais agudas e crônicas que podem atrasar o tratamento da doença de base, reter o paciente internado no hospital por maior tempo e, em casos mais específicos, podendo ser fatal ao desfecho no paciente, como na reação a antígenos do sistema ABO. (MS., 2013).

Além disso, ao reduzir a sobrevivência das hemácias transfundidas, a aloimunização aumenta os gastos com estes pacientes, e pode resultar em sobrecarga de ferro, diante da necessidade de mais transfusões. Um segundo grupo de complicações inclui a doença hemolítica do feto e recém-nascido, que ocorre quando há incompatibilidade entre sistemas de grupos sanguíneos entre mães previamente aloimunizadas com o feto. Nos Estados Unidos, nos últimos anos, os aloanticorpos antieritrocitários têm sido relacionados à maioria das reações transfusionais hemolíticas fatais relatadas ao FDA (Food and Drug Administration), consideradas como segunda principal causa de morte relacionada à transfusão (Tatari et al., 2014).

Vários estudos têm mostrado que o risco de aloimunização aumenta conforme um número crescente de transfusões. Além disso, as mulheres apresentam uma taxa mais elevada de aloimunização, em decorrência de gestações de fetos parcialmente compatíveis. Curiosamente, nem todos os pacientes desenvolvem aloanticorpos após exposição a um antígeno por transfusão de hemácias, embora os mecanismos imunológicos responsáveis por esta diferença na



resposta sejam desconhecidos. Em geral, o risco de aloimunização gira em torno de 1% por unidade transfundida. (Sally et al., 2014).

Os antígenos das membranas celulares, como os antígenos de histocompatibilidade (HLA) e os antígenos dos grupos sanguíneos eritrocitários (em particular os dos sistemas Rh, Kell, Duffy e Kidd) são os mais imunogênicos de nossa espécie. A formação de anticorpos contra antígenos eritrocitários é o primeiro efeito imunológico a ser reconhecido após transfusão de glóbulos vermelhos. São chamados anticorpos irregulares aqueles que resultam da exposição a aloantígenos contidos em hemocomponentes transfundidos ou fetos incompatíveis. Esta nomenclatura decorre do fato de sua ocorrência não ser esperada. Os anticorpos irregulares ocorrem em aproximadamente 0,3% a 2,0% da população em geral, 9% de pacientes politransfundidos e 36% em portadores de doença falciforme (Girello., 2016). A pesquisa de anticorpos irregulares é um dos testes pré-transfusionais obrigatórios, segundo a legislação vigente.

Algumas estratégias são extremamente necessárias para reduzir a presença de aloimunização. Elas incluem a utilização criteriosa de transfusões sanguíneas, seguindo os protocolos disponíveis pelo Ministério da Saúde, e a realização da fenotipagem pré-transfusional para pacientes politransfundidos. Recentemente, a genotipagem dos receptores de transfusões múltiplas aumentou a precisão da caracterização imuno-hematológica destes pacientes, e assim contribui para a seleção exata de concentrados eritrocitários compatíveis (Thibert et al., 2015).

### **1.5. Os Grupos Sanguíneos**

Estudo sobre polimorfismos de grupos sanguíneos em diferentes regiões geográficas tem estimado que a contribuição africana para a população urbana americana é de 4% a 34% e a de origem Ameríndia de 0% a 27% (Daniels et al., 2005). A frequência dos sistemas sanguíneos ABO, Rh, Kell, Duffy, Kidd e MNS na população brasileira, diferem nas regiões Sul, Sudeste, Nordeste e Norte (Novaretti et al., 2000; Castilho et al., 2004). O alto grau de combinações genéticas, devido à miscigenação racial em nosso país, dificulta a atividade da terapia transfusional nos pacientes politransfundidos ou que necessitam desta terapia com frequência.

### 1.5.1. Sistema ABO

O sistema de grupos sanguíneos A, B e O foi o primeiro a ser descoberto em 1900, pelo médico austríaco Karl Landsteiner, através de experimentos nos quais se verificaram a aglutinação dos glóbulos vermelhos quando misturados aos soros de outros indivíduos. E, até hoje, continua sendo considerado o mais importante sistema de grupo sanguíneo na medicina transfusional. (Harmining., 2015).

### 1.5.2. Sistema Rh

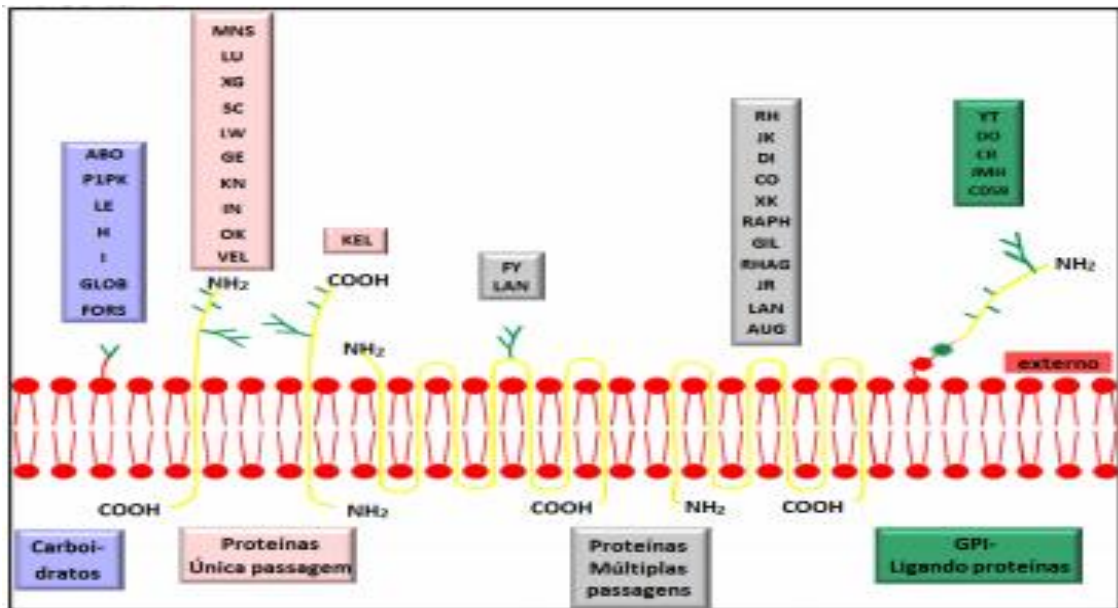
Atualmente o sistema Rh é constituído de 49 antígenos. Dos quais os de maior relevância são os antígenos: RhD, C/c, E/e. O mais importante do ponto de vista clínico, devido ao seu alto grau de imunogenicidade. O gene *RHD* codifica o antígeno RhD, enquanto que o gene *RHCE* codifica os antígenos C/c, E/e. (Agré., 1991).

### 1.5.3. Outros sistemas

Outros sistemas de grupos sanguíneos foram descritos, entre eles os principais são (Kell, Duffy, Kidd, Lewis, P, MNS, Lutheram, Diego, Yt, Xg, Scianna, Dombrock, Colton, Landsteiner, Wiener, Chido/Rodgers, Hh, Kx, Gerbich, Cromer, Knops, Indian, OK, Raph, John Milton Hagen, I, Globosídio e Gill). (Girello., 2016).

Atualmente, já são conhecidos 308 antígenos de diferentes grupos sanguíneos, que estão organizados em 36 sistemas, os antígenos eritrocitários são estruturas macromoleculares localizados na superfície extracelular da membrana dos eritrócitos podendo ser de natureza carboidrato, proteína ou glicoproteína. A classificação dos fenótipos eritrocitários é fundamental para a prática transfusional segundo a Sociedade Internacional de Transfusão Sanguínea (International Society Blood Transfusion – ISBT). (Desai et al., 2015).

**Figura 2.** Inserção dos antígenos de grupos sanguíneos na membrana eritrocitária



Fonte: Castilho et al., 2015.

A frequência dos fenótipos determinados por estes diferentes sistemas de grupos sanguíneos varia de acordo com a raça e a população, como consequência de fenômenos importantes como migração, cruzamento étnicos, deriva gênica, e doenças que conferem vantagens ou desvantagens a certos grupos sanguíneos. Como exemplo, a frequência do fenótipo “O” varia substancialmente, sendo em torno de 60% entre nativos americanos, 90% entre indígenas sul- americanos e 50% entre negros nativos da américa do norte. (Michot et al., 2015).

Os grupos sanguíneos de um indivíduo representam a heterogeneidade de antígenos expressos na superfície da membrana dos glóbulos vermelhos como proteínas, glicoproteínas, e podem ser detectados sorologicamente por anti-soros em ensaios de aglutinação. Mas recentemente, a biologia molecular foi incorporada a imunohematologia, aumentando a precisão da determinação do perfil individual de expressão de antígenos eritrocitários. (Chou et al., 2012).

### 1.6. O problema da aloimunização na doença falciforme

Aloimunização ocorre em aproximadamente 30% dos pacientes com DF transfundidos, em comparação com 2-5% de todos os receptores de transfusão. Um

estudo realizado por Helman e colaboradores, entre os anos de 2007 e 2008, propôs avaliar a incidência de aloimunização eritrocitária em 53 pacientes com doença falciforme. Desses, 45 (84,95%) tinham genótipo SS, 3 (5,7%) eram SC, 3 (5,7%) eram S $\beta$ +, 1 (1,9%) era S $\beta$ /tal e 1 (1,9%) era S $\alpha$ /tal. A maioria, 26 pacientes receberam ao longo da vida mais que 30 transfusões sanguíneas, sendo observado o maior risco para pacientes com número de transfusões superior a cinco em relação a pacientes que receberam até cinco transfusões ( $p < 0,106$ ); quando comparados aos pacientes que receberam mais de 3 transfusões nos últimos dois anos aos pacientes que receberam até 3 transfusões, o risco de aloimunização é estatisticamente significativo ( $p < 0,028$ ). No que se refere aos aloanticorpos, foram encontrados um total de 15 aloanticorpos diferentes, sendo que, dos 15 aloanticorpos identificados, 33,3% foram contra antígenos do sistema Rhesus e 26,6% contra antígeno do grupo Kell. Contudo, o estudo concluiu que as taxas de aloimunização encontradas foram menores que em estudos estrangeiros, o que pode refletir maior compatibilidade de fenótipo entre doadores de sangue e pacientes nesta população (Helman et al., 2011).

Na terapia da DF a transfusão sanguínea é importante em situações específicas como, as crises (aplásticas, hemolíticas e de sequestro esplênico), manuseio do AVC e tratamento de algumas complicações anêmicas severas. Assim, a identificação dos fatores de risco beneficiaria esta população de pacientes (Tatari et al., 2014).

É importante ressaltar que a taxa de aloimunização eritrocitária pode diferir entre regiões ou países, devido às diferenças entre o padrão fenotípico eritrocitário da população de doadores e dos receptores (Campbell-lee., 2007).

O estudo de Fabron e colaboradores, 2004 mostra que o risco de aloimunização por unidade de hemácias transfundida é de 1,15% em pacientes com DF no Brasil. Além disso, essa taxa é similar ou menor do que em outros grupos de pacientes com doenças hematológicas, ou não, que necessitam de múltiplas transfusões sanguíneas (Fabron et al., 2004).

As hemácias para os pacientes falciformes devem ser fenotipadas para os principais sistemas de grupos sanguíneos a fim de evitar a aloimunização e possíveis complicações para o quadro clínico dos pacientes.

A elevada frequência de aloimunização dificulta a seleção de hemocomponentes e propicia maior exposição à aloantígenos (Chou et al., 2012). Além disso, diferenças étnicas entre doadores e receptores têm o potencial de aumentar o risco de aloimunização (Kacker et al., 2015).

### **1.7. Variabilidade genética no Amazonas e seu impacto potencial na aloimunização**

A modificação gênica que deu origem à célula falciforme provavelmente ocorreu em pelo menos cinco regiões diferentes durante o processo evolutivo da espécie humana. Análises realizadas por polimorfismos permitiram identificar essas mutações independentes, por meio de análises moleculares efetuadas nos genes da globina beta em diferentes populações, que resultaram no conhecimento dos haplótipos (determinam os padrões de combinações dos sítios polimórficos em qualquer cromossomo) da Hb S. (Pinto et al., 2007).

Os haplótipos da anemia falciforme são classificados em cinco tipos diferentes, de acordo com a origem étnica e localizações geográficas onde predominam. O haplótipo Benin (BEN) tem sido associado à África Ocidental; o Bantu ou República Centro Africana (CAR) à África Oriental e Centro-Sul; o Senegal à África Atlântico-Ocidental; o Árabe-Indiano à Índia e Península Arábica e o Camarões à Costa Ocidental Africana (Gonçalves et al., 2003).

Sabe-se que, os haplótipos associados diretamente aos níveis mais altos de hemoglobina (Hb) F seriam acompanhados de doença menos grave. Acredita-se que a presença do haplótipo senegal, que tem maior nível de Hb F, estaria relacionada com diminuição de crises dolorosas, de infartos ósseos e de insuficiência de órgãos, enquanto pacientes portadores do haplótipo bantu e com baixos níveis de Hb F apresentam manifestações clínicas mais severas e iniciam crises vaso-oclusivas mais precocemente que a maioria (Steinberg., 1994).

Ao que se refere sobre a distribuição dos mesmos, sabe-se que o haplótipo benin foi disseminado para Espanha, Portugal, Sicília e ilhas localizadas ao sudeste da Itália, Grécia, Turquia e noroeste da Arábia Saudita, enquanto que o haplótipo bantú espalhou-se para o Kenia, Zambia e Sudão (Nagel., 1984).

No Brasil, estudos referentes à distribuição de haplótipos de Hb S, foram realizados em diferentes populações, como: Belém, Salvador, Ribeirão Preto, Rio de Janeiro e Porto Alegre, cujos resultados mostraram predomínio do haplótipo Bantu em Belém (66%), Salvador (55%), Ribeirão Preto (37%), Rio de Janeiro (61%), e Porto Alegre (79%) seguido do haplótipo Benin com frequência média de 32% (Naoum., 2011).

Dentre o contexto da região Amazônica, não foram encontrados dados específicos sobre a distribuição de haplótipos. Contudo, segundo (Batista., 2012), é de conhecimento geral que a mesma apresenta peculiaridades populacionais e geográficas que a tornam específicas das demais regiões do país, devido ao processo de formação étnica da sua população, através da miscigenação entre os povos caboclos, os mestiços, os brancos, os negros, os mulatos e principalmente os índios, no período da colonização.

Tal peculiaridade é evidenciada, em um estudo realizado pelo grupo de Sérgio Pena, utilizando DNA mitocondrial de brasileiros considerados brancos que revelou a contribuição genética matrilinear de alta descendência ameríndia na região Norte do Brasil. Justificando, portanto, que os brasileiros carregam a marca genética da fase de início de colonização (Alves-Silva et al., 2000).

Visto que, as populações nativas americanas apresentam uma maior prevalência e suscetibilidade às doenças infecciosas do que as populações não nativas que habitam o mesmo ambiente. Evidências sugerem que a resposta imune é influenciada por diversos genes, e as diferenças étnicas podem resultar em respostas imunes distintas. No entanto a habilidade de desenvolver uma resposta imune adequada aos patógenos intracelulares é um dos principais fatores responsáveis por essa maior suscetibilidade. (Zembruski et al., 2010).

Por conseguinte um estudo realizado por (Campbell-lee.,2014), propõe que seja realizada a análises de todo o genoma , em particular , métodos que tenham em conta ascendência genética , tais como mapeamento com a finalidade de identificariam marcadores moleculares que poderiam ser usados para diferenciar

“respondedores” imunes, principalmente à transfusão sanguínea, beneficiando de forma direta a população politransfundida, principalmente os portadores de doença falciforme, no que se refere a aloimunização.

### **1.8. Hemoterapia no Amazonas**

A Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (FHMOAM) foi implantada em 13 de agosto de 1982, e é a instituição vinculada à Secretaria de Saúde do Governo do Estado do Amazonas responsável pelos processos de captação, coleta, tratamento e distribuição de sangue. Atua na capital e nas Unidades de Coleta e Transfusão no interior, e segue as diretrizes do Programa Nacional do Sangue e Hemoderivados (Pró-Sangue) do Ministério da Saúde. No estado do Amazonas, o FHMOAM é responsável por 100% da assistência hemoterápica das redes públicas e no âmbito privado seus recursos orçamentários arrecadados são revestidos dentre outros, principalmente em infraestrutura e qualificação dos serviços de hematologia e hemoterapia.

Dentre todos os distúrbios hematológicos, a Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (FHMOAM) é responsável atualmente pelo acompanhamento de 236 pacientes com diagnóstico de Doença Falciforme provindos tanto do interior quanto da capital Manaus.

Na instituição, esses pacientes recebem atendimento médico especializado, tratamento medicamentoso necessário para a manutenção da integridade física, controle da dor e a terapia transfusional, realizadas a partir de bolsas fenotipadas para os principais sistemas de grupos sanguíneos a fim de evitar os casos de aloimunização.

## 2. JUSTIFICATIVA

### Considerando:

- A relevância clínica e epidemiológica da aloimunização na DF,
- A influência do pool gênico de doadores e receptores de hemácias no risco de aloimunização,
- O perfil étnico peculiar da população do Amazonas,
- A carência de estudos sobre a frequência de aloimunização em pacientes com DF nesta população,
- A carência de estudos sobre o uso de transfusões de hemácias na DF no estado do Amazonas,

### Acreditamos que:

- Um estudo que descreva o perfil do uso de terapia transfusional na DF, assim como as características laboratoriais da aloimunização nestes pacientes, gerará informações novas sobre estes dois importantes aspectos, aumentando o conhecimento sobre os aspectos imuno-hematológicos da DF, e fornecendo dados importantes para a gestão desta condição no Brasil.

## 3. OBJETIVOS

### 3.1. Objetivo geral:

- Descrever as características laboratoriais da aloimunização eritrocitária em pacientes com DF acompanhados no FHMOAM.

### 3.2. Objetivos específicos

- Caracterizar os pacientes com DF quanto ao uso de transfusões de sangue.
- Descrever a prevalência de diferentes grupos sanguíneos na população de pacientes com doença falciforme.
- Descrever a prevalência de aloimunização eritrocitária.
- Identificar os anticorpos mais frequentes envolvidos na aloimunização eritrocitária.



- Avaliar o impacto de discrepâncias nos grupos sanguíneos entre doadores e receptores na frequência de aloimunização

#### **4. CASUÍSTICA E MÉTODOS**

##### **Desenho do estudo**

Estudo observacional de corte transversal retrospectivo.

##### **População de referência**

Pacientes com DF com registros de estudos imunohematológicos na FHEMOAM em qualquer momento do acompanhamento clínico

##### **Local do estudo**

Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterpia do Amazonas (FHEMOAM), Manaus, AM.

##### **População do estudo**

a) Pacientes: foram incluídos todos os pacientes portadores de DF com registro de provas imunohematológicas eritrocitárias na FHEMOAM entre 2005 e 2015.

b) Grupo controle: doadores de sangue.

- Critério exclusão: pacientes sem a fenotipagem de outros antígenos além de ABO e RhD.

##### **Tamanho da amostra**

Nosso objetivo foi a inclusão de 100% dos pacientes com registro transfusional no período do estudo. Por este motivo, não foi feito cálculo de tamanho amostral. Ao início do estudo, a única informação disponível era de que o número de pacientes com DF registrados na FHEMOAM era de 236.

Como controle para obtenção de um perfil fenotípico da população, utilizamos uma amostra de 9.945 doadores de sangue regulares da FHEMOAM para os quais os dados de fenotipagem já estavam disponíveis.

##### **Modelo assistencial e indicações de transfusão**

Os pacientes com DF acompanhados na FHEMOAM recebem atendimento médico, odontológico, terapia medicamentosa e assistência social na mesma instituição, onde estão cadastrados no programa de Hemoglobinopatias do Ministério da Saúde. Para atendimento médico os pacientes em estado estável (fora de crise de vaso-oclusão) recebem atendimento a cada 6-12 meses através do sistema de agendamento. Os pacientes com alguma complicação aguda procuram a instituição no atendimento de urgência que funciona 24 horas.

Todas as transfusões de concentrados de hemácias realizadas para pacientes com DF são feitas com componentes fenotipados e desleucocitados. A indicação de transfusão é feita pelo médico assistente. Embora não haja um protocolo formal de indicações de transfusões da instituição, todas as condutas assistenciais devem se basear nas diretrizes de assistência ao paciente com doença falciforme do Ministério da Saúde (MS, 2012). De acordo com este documento, as transfusões – regulares e episódicas - estão indicadas nas seguintes situações específicas:

> Tratamento das complicações anêmicas severas:

- Crise aplástica;
- Crise hiper hemolítica;
- Crise de sequestração esplênica;
- Manuseio do acidente vascular cerebral;
- Manuseio do priapismo;
- Manuseio da síndrome torácica aguda;
- Manuseio pré-operatório;
- Doença pulmonar hipóxia progressiva.

Quanto ao fluxo de solicitação e realização de exames imunohematológicos para esta população, o seguinte procedimento é adotado: o setor de Imunohematologia é subdividido nas seguintes áreas:

- Receptor de pacientes;
- Imuno-doador;
- Imuno-gestante;
- Imuno-pesquisa.

Os pacientes com DF são atendidos pela área de imuno-pesquisa, responsável pela realização de testes imunohematológicos de maior complexidade.

O setor possui um protocolo de atendimento para os pacientes falciformes de primeira vez, onde os mesmos são triados para a tipagem ABO e Rh, PAI, TAD e Fenotipagem de eritrócitos, após a realização desses testes os resultados são registrados no livro de triagem e livro de fenotipagem do setor, a fenotipagem servirá como parâmetro para as transfusões posteriores quanto aos antígenos que deverão ser selecionados para transfusão. Quando da necessidade de transfusão, as solicitações são encaminhadas diretamente para o setor de pesquisa que realiza busca no banco de dados do sistema Hemosys (Sistema de Atendimento do Doador) para busca dos doadores fenotipados a fim de verificar a disponibilidade de componentes sanguíneos contendo os mesmos fenótipos do paciente, quando não há disponibilidade do componente é necessário acionar o serviço social do doador a fim de convocar doadores com os mesmos fenótipos, é comum às transfusões para falciformes serem programadas devido à necessidade das bolsas serem fenotipadas e ainda do processo de desleucocitação do componente sanguíneo.

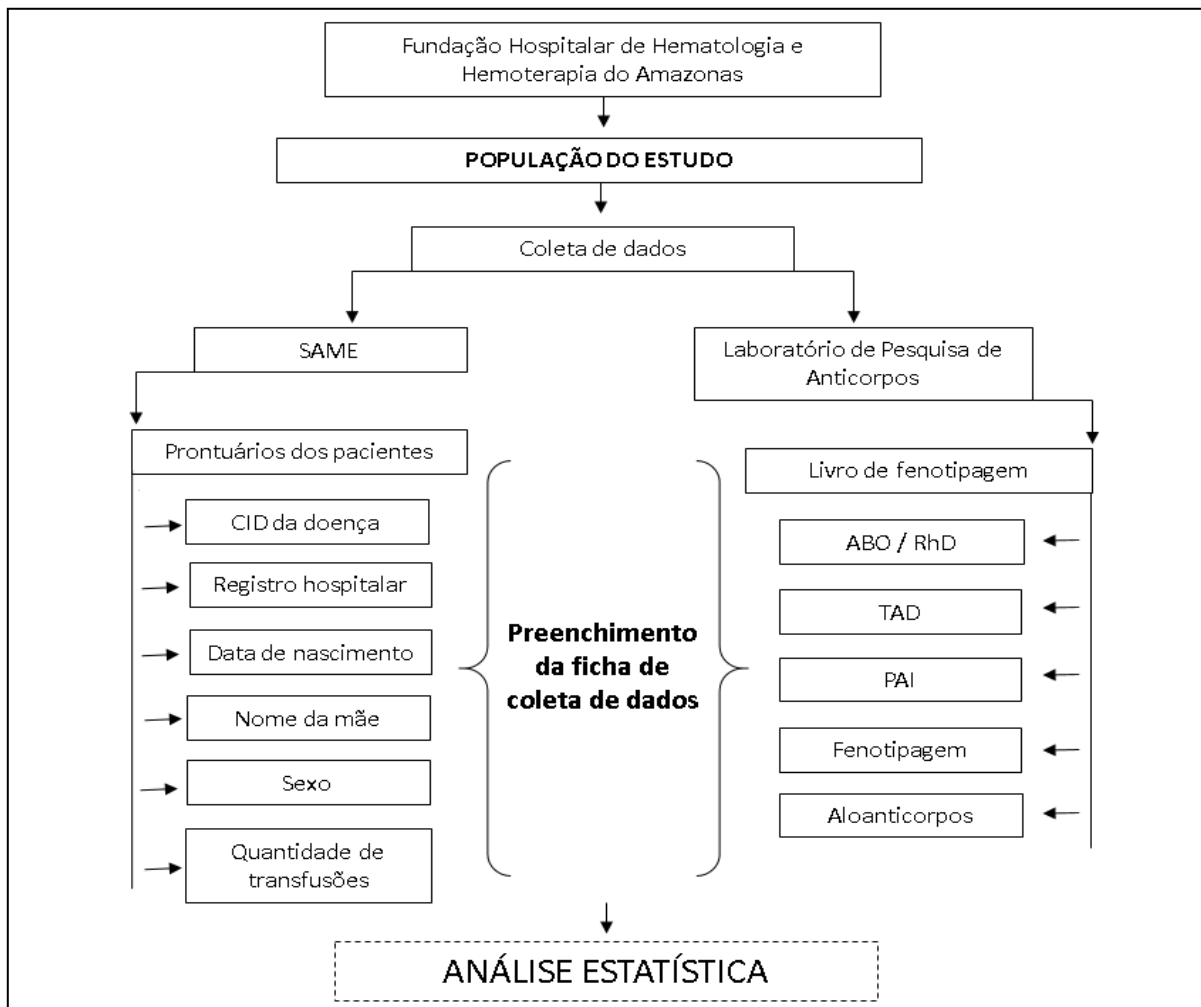
### **Coleta de Dados**

A identificação dos pacientes foi feita a partir dos registros do Laboratório de Pesquisa de Anticorpos do FHEMOAM. Os pacientes foram identificados nos livros de registro de fenotipagem, dos quais foram obtidos os seguintes dados: tipagem ABO e RhD, PAI, identificação de anticorpos, TAD e fenotipagem.

Dados complementares, incluindo o histórico de pelo menos um evento transfusional, foram obtidos dos prontuários dos pacientes junto ao Serviço de Arquivo Médico Estatístico (SAME). O seguinte fluxo foi acordado com o SAME: todas as quartas-feiras eram entregues ao SAME uma relação dos pacientes que seriam analisados. Estes prontuários eram entregues para a pesquisadora na sexta-feira e analisados na própria FHEMOAM sob a supervisão dos funcionários do SAME. Esse processo foi realizado continuamente até a conclusão das análises de todos os pacientes. Os dados obtidos os prontuários foram: idade, sexo, classificação da DF em SS, SC e S $\beta$  e ainda o quantitativo de transfusão sanguínea

para cada paciente. Em alguns casos foi necessário a utilização do sistema IDoctor (prontuário digital) para complementação dos dados. Os dados foram registrados em planilha Excel de forma codificada elaborada pela própria pesquisadora. Um esquema geral do estudo é mostrado na figura 3.

**Figura 3.** Fluxograma de coleta de dados do estudo.



Os dados das fenotipagens dos doadores de sangue (controles) foram obtidos através do Sistema Hemosys, sistema próprio da FHEMOAM que armazena todos os dados relacionados aos doadores de sangue atendidos na instituição.

## **Considerações Éticas**

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação HEMOAM em 29 de dezembro de 2015, pelo parecer de nº 1382.281., CAAE: 48831615.6.0000.0009. Pelo desenho do estudo, foi concedida a autorização para dispensa da obtenção do termo de consentimento livre e esclarecido.

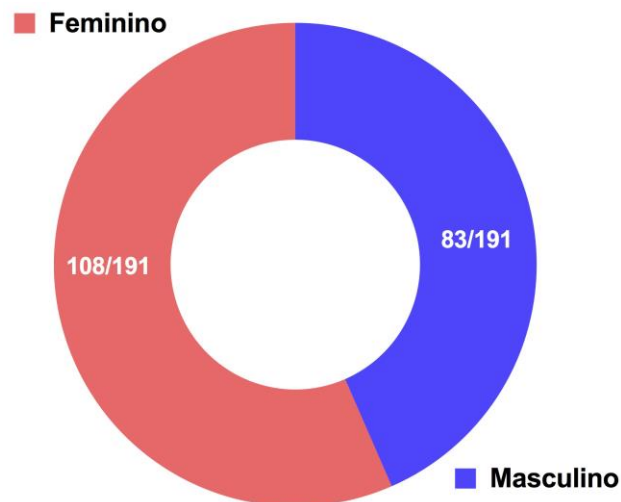
## **Métodos Estatísticos**

Os dados foram reportados através da estatística descritiva na forma de frequência absoluta e numérica. Os resultados percentuais foram organizados em tabelas. As variáveis quantitativas foram descritas com mediana, mínimo e máximo. As médias ou medianas foram comparadas pelo teste t de Student ou Mann-Whitney (conforme a distribuição das variáveis). As frequências das entre os grupos foram comparadas pelo teste do qui-quadrado. As análises foram realizadas utilizando o programa R (3.1.1) e com o programa Graphpad Prism v. 7.0. O nível de significância estatística será de  $p=0,05$ .

## 5. RESULTADOS

A amostra do estudo foi constituída por 191 pacientes portadores de DF atendidos FHEMOAM. A distribuição da população quanto ao sexo é mostrada na figura 4. A distribuição quanto ao ano de nascimento da população do estudo é mostrada na tabela 1. Observamos que a maior parte de nossos pacientes nasceram entre 1944 e 2015.

**Figura 4.** Distribuição por sexo. A figura mostra a distribuição da população quanto ao sexo.



**Tabela 1.** Distribuição da população do estudo quanto ao ano de nascimento.

Período de nascimento (ano)	N	%
< 1990	66	34,5
1991-1999	28	14,6
2000-2004	37	19,5
2005-2009	42	22,0
2010-2015	18	9,5
Total	191	100

Em relação à classificação da DF, a distribuição de diagnósticos observada na população do estudo é mostrada na tabela 2. Podemos observar a clara predominância de pacientes homocigotos para a HbS.

**Tabela 2.** Classificação da DF.

<b>Subtipo de DF</b>	<b>n (%)</b>
<b>SS</b>	180 (94,2)
<b>SC</b>	4 (2,1)
<b>Sβtal</b>	7 (3,7)
Total	191 (100%)

SS: anemia falciforme; SC: hemoglobinopatia SC; Sβtal: Sβ-talassemia

Em relação aos sistemas de grupo sanguíneos ABO e RhD, a distribuição observada em nossa população é mostrada na tabela 3. Destacamos o predomínio de pacientes com grupo sanguíneo O (55,6%), e a baixa frequência de pacientes RhD negativos (5,2%).

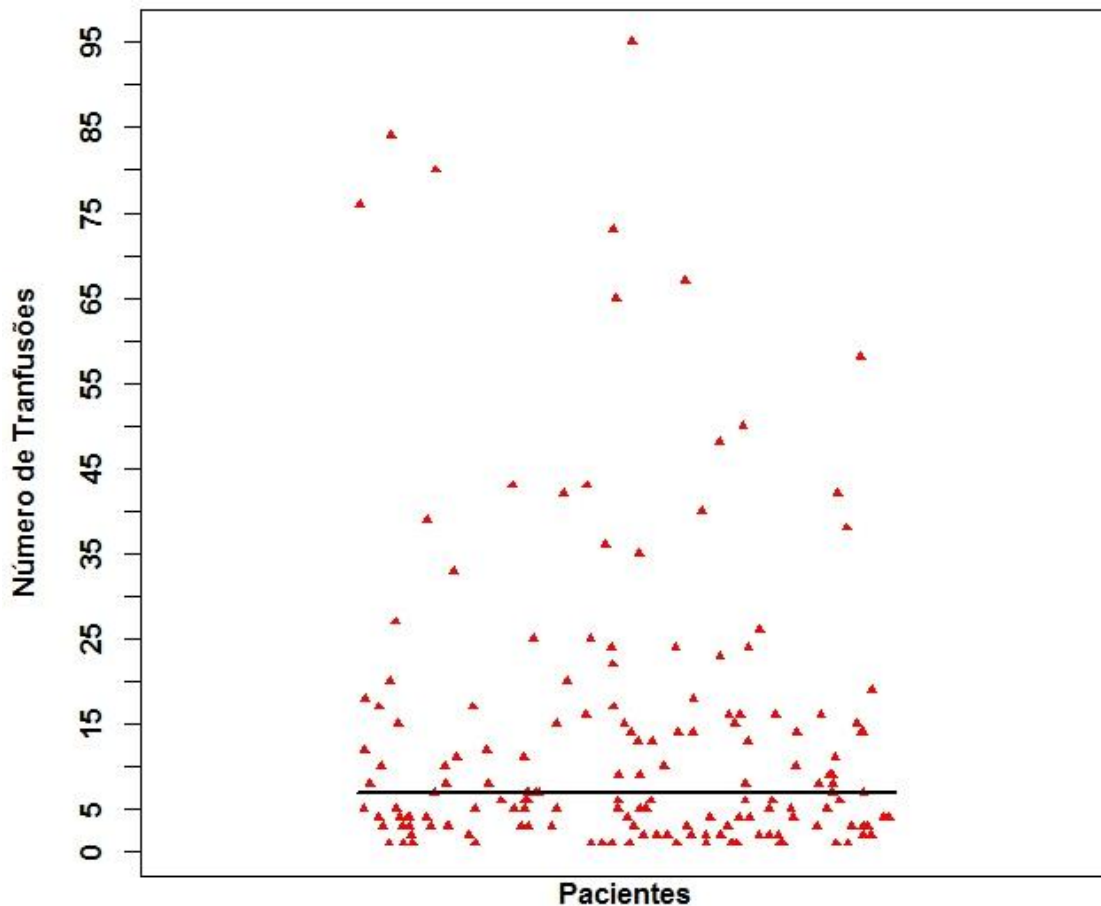
**Tabela 3.** Sistemas ABO e RhD na população do estudo.

<b>ABO</b>	<b>RhD +</b>	<b>RhD -</b>	<b>Total</b>
O	101 (52,9)	5 (2,6)	106 (55,6)
A	51 (26,7)	5 (2,6)	56 (29,3)
B	23 (12,0)	0	23 (12,0)
AB	6 (3,1)	0	6 (3,1)
Total	181 (94,8)	10 (5,2)	191 (100)

Do total de pacientes estudados, para 28 (15%) não foram encontrados registros de transfusão. Embora seja provável que estes pacientes tenham sido transfundidos em outro serviço, a população exposta de nosso estudo foi considerada como sendo os 163 pacientes transfundidos. Dentre estes pacientes, a maioria realizou cinco ou mais transfusões, como mostrado na tabela 4. A mediana de transfusões nestes pacientes foi de 5 (1 – 96) e a distribuição gráfica da frequência de transfusões é mostrada na figura 5.

**Tabela 4.** Frequência de transfusões na população do estudo.

Número de transfusões	n (%)
0	27 (14,1)
1	19 (10,0)
2-5	54 (28,2)
6-10	30 (15,8)
11-20	32 (16,7)
21-50	21 (11,0)
> 50	8 (4,2)
Total	191 (100)

**Figura 5.** Frequência de transfusões. A figura mostra a distribuição da população do estudo quanto ao número de transfusões realizadas. A barra horizontal indica a mediana.

Nós também avaliamos a frequência de antígenos eritrocitários dos sistemas de grupos sanguíneos mais relevantes através da revisão dos dados de fenotipagem



dos pacientes com DF da população do estudo. Nestas análises foram incluídos todos os 191 pacientes para os quais havia dados imunohematológicos disponíveis. Os dados referentes aos sistemas Rh e Kell são mostrados na tabela 5, e os dados de outros sistemas são mostrados na tabela 6. Com o objetivo de avaliar o grau de incompatibilidade entre nossa população de pacientes e de doadores, nós também obtivemos os mesmos dados de uma população de doadores de sangue regulares do FHEMOAM, do ano de 2015. Não foram observadas diferenças significativas em relação aos sistemas Rh, Kell e Lutheran. No entanto, foram observadas diferenças em relação a outros sistemas como o Duffy, Kidd, Lewis e MNS (tabela 6).

**Tabela 5.** Fenotipagem da população do estudo e de doadores regulares da FHEMOAM.

Sistema de grupos sanguíneos	Anticorpos eritrocitários específicos	Pacientes		Doadores	P* value
		Frequência n	(%)	Frequência n (%)	
Rh	D	182	(95,2)	8.502 (85,0)	0,3143
	C	127	(66,5)	6.739 (67,7)	0,9130
	C	154	(80,6)	7.756 (77,9)	0,7983
	E	78	(40,8)	3.793 (38,1)	0,6564
	E	182	(95,3)	9.316 (93,6)	0,9092
	Cw	0	(0,0)	74 (0,7)	-
Kell	K	6	(3,14)	329 (3,3)	1,0000
	K	191	(100,0)	9.917 (99,7)	1,0000
	Kp <sup>a</sup>	0	(0)	56 (0,5)	0,5771
	Kp <sup>b</sup>	191	(100,0)	9.913 (99,5)	1,0000

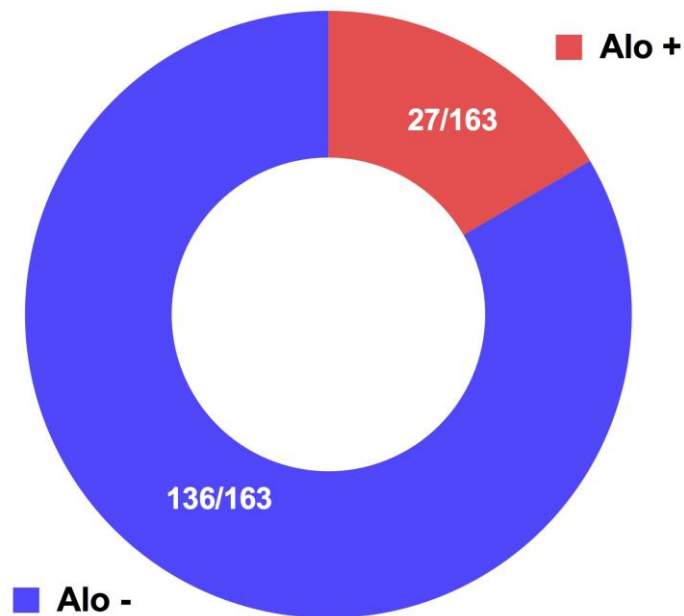
**Tabela 6.** Fenotipagem da população do estudo e de doadores regulares da FHEMOAM.

Sistema de grupos sanguíneos	Anticorpos eritrocitários específicos	Pacientes		Doadores		
		Frequência n	(%)	Frequência n	(%)	P* value
Duffy	Fy <sup>a</sup>	127	(66,5)	4.339	(43,6)	0,0002
	Fy <sup>b</sup>	134	(70,2)	4.009	(40,3)	0,0006
Kidd	Jk <sup>a</sup>	154	(80,6)	4.854	(48,8)	0,0002
	Jk <sup>b</sup>	119	(62,3)	4.181	(42,0)	0,0007
Lewis	Le <sup>a</sup>	8	(4,2)	305	(3,0)	0,5060
	Le <sup>b</sup>	123	(64,4)	8.437	(84,8)	0,0185
MN	M	163	(85,3)	5.216	(52,4)	0,0004
	N	103	(53,9)	3.432	(34,5)	0,0002
Ss	S	173	(90,6)	5.289	(53,1)	0,0002
	S	114	(59,7)	3.235	(32,5)	0,0001
Lutheran	Lu <sup>a</sup>	5	(2,6)	171	(1,7)	0,5066
	Lu <sup>b</sup>	190	(99,5)	9.884	(99,4)	1,0000

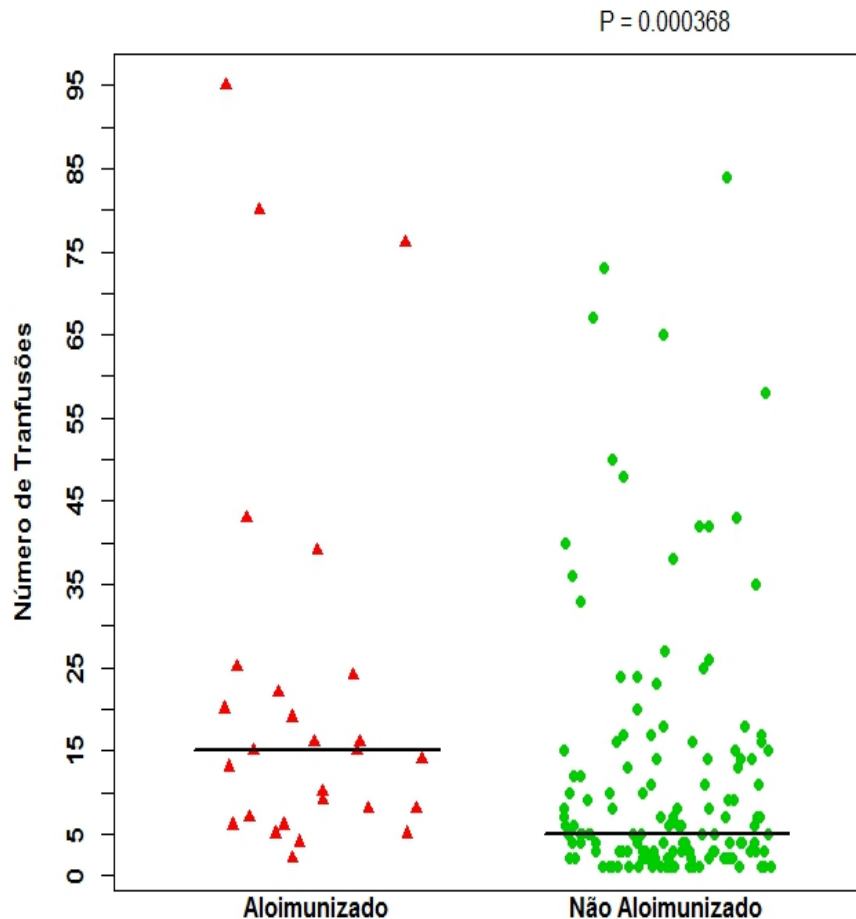
\* Teste do qui-quadrado.

Em seguida, avaliamos a frequência de aloimunização entre os 163 pacientes expostos a transfusão, que foi de 27/163 (16,6%) (Figura 6). Também avaliamos o impacto do número de transfusões nesta frequência, como mostrado na figura 7. A análise mostra que o número de transfusões é significativamente maior nos pacientes aloimunizados que nos pacientes sem aloimunização, em conformidade com outros estudos.

**Figura 6.** Frequência de aloimunização. A figura mostra a frequência de aloimunização entre os 163 pacientes.



**Figura 7.** Impacto do número de transfusões sobre a aloimunização. A figura mostra a associação entre o número de transfusões por paciente e o risco de aloimunização. As barras horizontais indicam a mediana. Teste t de Student.



Nós também avaliamos o impacto do ano de nascimento neste risco de aloimunização, já que medidas destinadas a redução deste risco (como fenotipagem mais ampla) foram adotadas mais recentemente. A frequência de aloimunização em pacientes nascidos antes e após ano de 2000 foi de 59,2% e 40,8% respectivamente, que não configura uma diferença estatisticamente significativa.

Dos 27 pacientes aloimunizados, dezoito (9,28%) apresentaram apenas um aloanticorpo, seis pacientes (3,09%) apresentaram 2 aloanticorpos e 3 pacientes (1,55%) apresentaram 3 aloanticorpos em associação (Tabela 7). No total foram identificados 39 aloanticorpos, com especificidade para 12 diferentes antígenos de grupos sanguíneos. A especificidade e a frequência de cada um destes 39 aloanticorpos são mostrados na tabela 8.

**Tabela 7.** Frequência de aloanticorpos por paciente aloimunizado.

<b>Aloanticorpos</b>	<b>Frequência n (%)</b>
0	164(86,08)
1	18 (9,28)
2	6(3,09)
3	3 (1,55)
Total (aloimunizado)	27(13,9)

**Tabela 8.** Aloanticorpos identificados na população do estudo.

<b>Sistema</b>	<b>Anticorpos identificados</b>	<b>Frequência n (%)</b>
Rh	Anti – C	1 (2,6)
	Anti – c	1 (2,6)
	Anti – E	11 (28,2)
	Anti – e	1 (2,6)
	Anti – D	4 (10,2)
S	Anti - S	1 (2,6)
	Anti - s	2 (5,1)
Kell	Anti – Kell	9 (23,0)
Duffy	Anti - Fy <sup>a</sup>	3 (7,7)
	Anti - Fy <sup>b</sup>	1 (2,6)
Kidd	Anti - Jk <sup>a</sup>	1 (2,6)
Diego	Anti - Di <sup>a</sup>	4 (10,2)
Total		39 (100)

## 6. DISCUSSÃO

A aloimunização é uma das principais complicações transfusionais da DF, que além do potencial de gerar reações transfusionais, dificulta sobremaneira a obtenção de componentes para transfusão destes pacientes. Por se tratar de uma complicação mediada pelo sistema imune, tanto as diferenças na regulação do sistema imune entre populações de diferentes origens étnicas, quanto o grau de discrepância na expressão de antígenos de grupos sanguíneos entre doadores e receptores devem ser considerados fatores importantes na fisiopatologia da DF. Neste contexto, o principal objetivo deste estudo foi caracterizar o perfil de aloimunização eritrocitária de pacientes do estado do Amazonas.

Em nosso estudo foram avaliados 191 pacientes com DF identificados nos registros laboratoriais do FHEMOAM com base na disponibilidade de resultados de fenotipagem de antígenos eritrocitários. Destes, 163 pacientes apresentavam registro de pelo menos um evento transfusional, consistindo na população de maior interesse. O fato do FHEMOAM ser o único centro responsável pelo seguimento de pacientes com DF no Amazonas, e o rigor exigido pelas autoridades de saúde no registro de procedimentos transfusionais nos dão segurança que estes 163 pacientes são uma parcela representativa da totalidade de pacientes com DF submetidos a transfusão em nosso meio. De fato, a frequência de pacientes homozigotos para HbS de 94,2% é compatível com um levantamento prospectivo recente realizado em nosso ambulatório, (comunicação verbal de P. Cesar), e ilustra uma importante diferença com populações do nordeste e de outras regiões do Brasil onde a associação da DF com a beta-talassemia é mais comum.

Nosso principal resultado foi que a prevalência de aloimunização eritrocitária foi de 16,6%. O dado mais clássico sobre esta prevalência é provavelmente aquele obtido no Estudo Cooperativo de Doença Falciforme, realizado por Rosse et al., 1990 nos EUA, conhecido pelo acrônimo CSSCD (Rosse et al., 1990). Este estudo, em um universo de 3047 pacientes participantes encontrou um percentual de 25,10% de aloimunizados, valor um pouco maior que o nosso. Zheng e colaboradores, em 2016, publicaram uma extensa revisão sobre dados de prevalência de aloimunização na DF. Os valores descritos mostram uma grande heterogeneidade, com prevalências desde 2,6% na Jamaica até 76,19% em um

estudo no Reino Unido (Zheng et al., 2016). No entanto, estes valores extremos foram obtidos de estudos que incluíram poucos pacientes, o que pode indicar problemas de amostragem. Quando os autores calcularam a média de aloimunização de todos os estudos, uma prevalência de 22,33% foi descrita nos centros dos Estados Unidos da América (totalizando 3708 pacientes expostos), comparada a uma prevalência de 16,25% em 2203 pacientes de outros países (Zheng et al., 2016). Três estudos brasileiros foram incluídos nesta revisão, realizada por Zheng e colaboradores totalizando conjuntamente 1.018 pacientes. Nesta população a média de pacientes aloimunizados foi de 14,6%. A análise individual destes estudos também mostra um quadro muito heterogêneo, com prevalências que variam de 9,9% em um estudo realizado em São Paulo com 8282 pacientes (Murao & Viana, 2005), até 51,85% em um estudo realizado na Bahia com 108 pacientes (Zanette et al., 2010). No entanto, este estudo incluiu apenas pacientes com mais de 3 transfusões e acima de 18 anos, o que não representa a totalidade de pacientes com DF expostos a transfusão. Além destes três estudos, a aloimunização foi estudada no Brasil por diversos outros grupos: Helman e colaboradores em uma população de 53 pacientes da cidade de São Paulo encontraram uma prevalência de 22,6% (Helman et al., 2011); e Fabron e colaboradores em uma população de 87 pacientes também de São Paulo relataram uma prevalência de 20,8% (Fabron et al., 2004). Cabe destacar que o número de pacientes inseridos nestes estudos sugere que estes valores não representam a parcela majoritária da população de pacientes com DF desta região, ao contrário de nosso estudo. Por fim, é importante destacar que no ano de 2003 foi defendida uma dissertação de mestrado na Unifesp que avaliou a prevalência aloimunização em 74 pacientes do Estado do Amazonas entre os anos de 2002 e 2003, com resultados de 18% (Matsuura, 2004). Estes dados não foram publicados, e nosso estudo representa uma análise mais ampla, completa e sistemática desta população.

Analisando nossa população por ano de nascimento dos pacientes, temos que cerca de 50% dos pacientes nasceram antes do ano 2000. Isto é relevante para a interpretação de nossos dados pois sabemos que a incorporação definitiva de medidas que previnem a aloimunização como o uso de hemácias fenotipadas implantou-se de forma mais regular no HEMOAM a partir de 1995. Estudos mais recentes realizados apenas com crianças mostram frequências de aloimunização

inferiores às observadas em nosso estudo, como em um estudo publicado em 2017, que encontrou um percentual de 13,7% em 175 crianças francesas, possivelmente pelo fato destes pacientes terem sido transfundidos regularmente com hemácias fenotipadas (Allali et al., 2017). Por este motivo, nós comparamos a frequência de aloimunização dentro de nossa população em relação ao ano de nascimento, sem encontrar diferenças significativas.

Quanto aos resultados para os sistemas ABO e RhD os resultados deste estudo se mostrou semelhante ao estudo de Helman publicado em 2011 que incluiu uma população de 53 pacientes de São Paulo (Helman et al., 2011) e o estudo de Pinto realizado no hemocentro de Alagoas com 102 pacientes, conforme tabela 9.

**Tabela 9.** Resultados comparativos do Sistema ABO E RhD.

Estudos	Sistema ABO				RhD		N
	A	B	AB	O	RhD+	RhD-	
Helman et al., 2011	20,8%	5,7%	7,5%	66%	94%	6%	53
Pinto et al., 2011	36,3%	6,9%	2%	54,8%	90,2%	9,8%	102
Este estudo	26,7%	3,14%	12,04%	52,87	94,7%	5,3%	191

Como já discutido, transfusões de componentes sanguíneos não são totalmente necessárias em todos os casos na DF, embora quando bem indicados são essenciais para o tratamento destes pacientes (Aly et al., 2012). Estima-se que metade dos pacientes falciformes são submetidos a terapia transfusional, e cerca de 5 a 10% passam a fazer uso dessa terapia cronicamente devido a complicações como AVCi, entre outras (Pinto et al., 2011). Embora não haja um valor desejável para a proporção de pacientes transfundidos em um serviço, dados do CSSCD indicam que 34,6% dos pacientes apresentavam histórico de transfusões (Rosse et al., 1990), ao passo que em um estudo realizado na Nigéria com a participação de 145 pacientes, esta proporção foi de 66,6% (Kangiwa et al., 2015). Como nosso estudo não partiu de uma análise de toda a população com DF acompanhado no



período, não temos como fazer qualquer inferência a respeito da frequência de transfusão em nossa população.

Quando avaliamos o impacto do número de transfusões no risco de aloimunização observamos no grupo de pacientes aloimunizados que a mediana de transfusões foi de 15 (5 a 95) ao passo que nos pacientes não aloimunizados esta mediada foi de 5 (5-85), com uma diferença estatisticamente significativa ( $P=0.000368$ ). O estudo de Kangiwa mostrou que em 86 pacientes em um hospital de ensino na Nigéria com múltiplas transfusões, 8 (9,3%) apresentaram aloanticorpos, sendo que desses 3 (37,5%) receberam < 5 transfusões, 2 (25%) de 5-10 e 3 (37,5%) receberam acima de 10 transfusões (Kangiwa et al., 2015). No Brasil, o estudo de Helman e colaboradores mostrou que pacientes que receberam mais de 3 transfusões apresentam um risco de aloimunização maior (Helman et al., 2011), em acordo com nosso estudo e com a literatura internacional no estudo de Ogwu e colaboradores também realizado na Nigéria com um grupo de pacientes que receberam terapia transfusional e um grupo controle de pacientes falciformes que não receberam transfusão, mostrou que a prevalência de aloimunização em pacientes falciformes politransfundidos foi de 9,3% e que no grupo controle nenhum paciente apresentou aloanticorpo, reafirmando que a transfusão sanguínea está relacionada com a produção de aloanticorpos (Ugwu et al., 2015) e que a aloimunização pode causar complicações nos pacientes podendo levar a reações hemolíticas agudas e tardias e ainda limitar a disponibilidades de bolsas compatíveis (Desai et al, 2015).

Além desta análise comparativa dos fenótipos eritrocitários de nossos pacientes com DF em relação à literatura, nós também comparamos estas frequências com uma população de mais de 9.000 doadores de nossa região. Esta comparação é interessante já que as características étnicas de nossos doadores são em alguns aspectos diferentes da de outras partes do Brasil, devido ao papel da ascendência indígena na Amazônia (Alves-Silva et al., 2000). Em relação aos antígenos investigados do sistema Rh e Kell, não observamos diferenças significativas entre doadores e receptores em nossa região. Já em relação aos outros sistemas, observamos que diversos antígenos relevantes apresentam-se diferencialmente distribuídos quando doadores são comparados a receptores. No entanto a ampla

maioria destas diferenças caracteriza-se de antígenos mais prevalentes em pacientes do que em receptores, com exceção do grupo sanguíneo Lewis B, encontrado em 84,8% dos doadores, e 64,4% dos pacientes ( $P=0,0185$ ). Como nenhum dos aloanticorpos encontrados dirigiu-se a este grupo sanguíneo, não atribuímos a esta discrepância a aloimunização de nossos pacientes. Este resultado vai parcialmente de encontro à hipótese levantada por Zheng e colaboradores, de que o suposto aumento do risco de aloimunização observado nos EUA em relação ao Brasil seria pela maior semelhança entre doadores e receptores em nosso país (Zheng et al, 2016). Por outro lado, a presença de discrepâncias em vários grupos sanguíneos ilustra bem que algum grau de heterogeneidade está presente entre doadores e receptores, mesmo em nosso meio; heterogeneidade esta cujas consequências clínicas são até o momento desconhecidas.

Atualmente pela Sociedade Internacional de Transfusão Sanguínea (ISBT) existem 308 antígenos eritrocitários distribuídos em 36 sistemas de grupos sanguíneos, sendo que os sistemas Rhesus, MNS e KELL são os mais complexos, e possuem 54, 48 e 35 antígenos, respectivamente (CASTILHO; PELLEGRINO JÚNIOR; REID, 2015). Os sistemas Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNSs são os principais antígenos envolvidos no processo de aloimunização (Fasano & Chou, 2016). Em nosso estudo foram encontrados 27 aloanticorpos, sendo os mais frequentes aqueles direcionados contra os antígenos E (28,2%), K (23%) e D (10,2%) e Di<sup>a</sup> (10,2%). O número de anticorpos por paciente variou de 1 a 3. A especificidade dos aloanticorpos encontrada em nossa população foi a mesma descrita na Bahia, onde os principais anticorpos irregulares encontrados foram anti-E (39%), anti-K (21%) e anti-C (16%) (Zanette et al, 2010), e em Minas Gerais: anti-E (31%), anti-K (15%), anti-C (18%) (Aguiar, 2013), porém em nosso estudo o anti-Di<sup>a</sup> se apresentou com um percentual de 10,2% só podendo ser comparado dentro deste grupo de paciente com o estudo de Helman e colaboradores que encontrou 20%, apesar deste antígeno ser de baixa incidência e predominante de povos indígenas e asiáticos, pode causar complicações graves em caso de reações transfusionais imediatas ou tardias (Cruz et al., 2011). Em relação a outros países, os anticorpos mais prevalentes foram dirigidos contra os antígenos do sistema Rhesus e Kell.

A principal força de nosso estudo reside no fato de termos incluído uma parcela muito representativa do total de pacientes com DF no estado do Amazonas. Isto pode ser deduzido pelo fato de o registro atual de pacientes com DF em nosso estado incluir 236 indivíduos. Assim, podemos inferir que os 191 pacientes incluídos em nosso estudo representam pelo menos 50% da população de falcêmicos do estado, o que aumenta a possibilidade de generalização de nossos dados para toda a população do Amazonas. Como limitação, o desenho retrospectivo, sabidamente associado a perda de informações, e as deficiências do sistema de registro de alguns dados relativos às transfusões tais como a fenotipagem e os resultados de PAI, registrados até recentemente por escrito em um livro, assim como os dados de reações transfusionais, de difícil rastreamento, certamente influenciaram na qualidade de nossos dados. No entanto, devemos destacar que estas limitações são muito frequentes em quase todos os estudos de aloimunização em pacientes com DF e que seu reconhecimento desde a fase de desenho do estudo nos permitiu utilizar uma estratégia capaz de minimizá-lo tanto quanto possível.

## 7. CONCLUSÕES

- A prevalência de aloimunização na população de pacientes com DF acompanhados na FHEMOAM foi de 16,6%
- A maior exposição a transfusões está associada à ocorrência de aloimunização
- A distribuição dos grupos sanguíneos de relevância clínica em nossa população não parece ter diferido da distribuição observada em outras regiões do Brasil
- Os aloanticorpos mais prevalentes foram contra os sistemas Rhesus e Kell
- O resultado para o anti-Di<sup>a</sup> se mostrou relevante dentro da nossa população de estudo.
- O perfil de aloanticorpos observado em nossa população é semelhante ao descrito em outras regiões do Brasil e do mundo
- Discrepâncias nos principais grupos sanguíneos de relevância clínica entre doadores e receptores não parecem contribuir para a aloimunização em nosso meio.
- De uma forma geral, nossos dados permitem concluir que apesar das diferenças étnicas entre populações da região norte do Brasil com outras populações, o padrão de aloimunização observado em pacientes com DF é semelhante ao descrito em outras regiões do Brasil.

## 8. REFERÊNCIAS

- Adams, R.J., McKie, V.C., Hsu, L., Files, B., Vichinsky, E., Pegelow, C., Abboud, M., Gallagher, D., Kutlar, A., Nichols, F.T., Bonds, D.R., Brambilla, D., (1998) **Prevention of a first stroke by transfusions in children with sickle cell anemia and abnormal results on transcranial Doppler ultrasonography.** *New England Journal of Medicine.* 2;339(1):5-11.
- Agre P, Cartron J-P. **Molecular biology of the Rh antigens.** *Blood* 78 (3): 551-563, 1991.
- Allali, S., Peyrard, T., Amiranoff, D., Cohen, J. F., Chalumeau, M., Brousse, V., & Montalembert, M. (2017). **Prevalence and risk factors for red blood cell alloimmunization in 175 children with sickle cell disease in a French university hospital reference centre.** *British Journal of Haematology.*
- Aly, R., El-sharnoby, M. R., & Hagag, A. A. (2012). **Frequency of red cell alloimmunization in patients with sickle cell anemia in an Egyptian referral hospital.** *Transfusion and Apheresis Science,* 47(3), 253-257.
- Alves-Silva, J.; Silva Santos, M. Da; Guimaraes, P. E.; Ferreira, A. C.; Bandelt, H. J.; Pena, S. D. e Prado, V. F. **"The Ancestry of Brazilian mtDNA Lineages"**. *Am J Hum Genet.*, n. 67, 2000, pp. 444-461.
- Batista, D. **Amazônia, cultura e sociedade.** Manaus, AM: Valer Coleção. Poranduba, 2012.
- Branden, Carl; TOOZE, John. **Introduction to Protein Structure.** Second Edition: Garland Science; 1999.
- Bordin, J.O., (2007). **Aloimunização após transfusão de concentrado de hemácias em pacientes atendidos em um serviço de emergência.** *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia.* V. 29, n.4. p.1-3.
- Brasil. Ministerio da Saúde. **Politica Nacional de Saúde Integral da População Negra.** 2º edição Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

Brasil. Ministerio da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada. Doença falciforme: **condutas básicas para tratamento**. 1º edição Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

Campbell-Lee, S. et al., (2014). **Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease: Listen to your ancestors**. Transfusion Medicine and Hemotherapy. 41(6):431-5. doi: 10.1159/000369513

Campbell-Lee, S. (2007). **The future of red cell alloimmunization**. Transfusion Medicine and Hemotherapy. doi: 47(11):1959-1960.

Castilho L, Pellegrino JR J. **Blood Group Genotyping**. Rev Bras Hematol e Hemoter, 26:135-140, 2004

Castilho, L.; Pellegrino JR, J.; Reid, M. E. **Fundamentos de Imuno-hematologia**. São Paulo: Atheneu, 2015.

Chen, G.K. Millikan, R.C. John, E.M. et al., (2010). **The potential for enhancing the power of genetic association studies in African Americans Through the reuse of existing genotype data**. PLoS Genet.doi:6:pii e100109.

Chou, T., Stella, (2013). **Transfusion therapy for sickle cell disease: a balancing** . Hematology Am Soc Hematol Educ Program: American Society of Hematology, 439-446. doi: 10.1182/asheducation-2013.1.439.

Chou, T., Stella, Liem, I., Robert, Thompson, A., Alexis, (2012). **Challenges of alloimmunization in patients with haemoglobinopathies**. British Journal of Hematology, 159:394-404. doi:10.1111/bjh.12061.

Cruz RO, Mota M, Conti FM, Pereira RA, Kutner JM, Aravechia MG, et al. **Prevalence of erythrocyte alloimmunization in polytransfused patients**. Einstein (São Paulo). 2011;9:173-8.

- Daniels G, van der Schoot CE, Olsson ML. **Report of the First International Workshop on molecular blood group genotyping.** Vox Sang. 2005;88(2):136-42.
- Desai, P.C· Deal, A.M., Pfaff, E.R., Qaqish, B., Hebden, L.M· Park, Y.A., Ataga Kl., (2015). **Alloimmunization is associated with older age of transfused red blood cells in sickle cell disease.** American Journal of Hematology, ;90(8):691-5. doi: 10.1002/ajh.24051.
- Detterich, J.A· Sangkatumvong, S., Kato, R., Dongelyan, A., Bush, A., Khoo, M., Meiselman, H.J., Coates, T.D., Wood, J.C., (2013). **Patients with sickle cell anemia on simple chronic transfusion protocol show sex differences for hemodynamic and hematologic responses to transfusion.** Transfusion, 53(5):1059-68. doi: 10.1111/j.1537-2995.2012.03961.x.
- Divers, J. Moossai, S. Langefeld, C.D. et al. (2008). **Genetic admixture; a tool to identify diabetic nephropathy genes in African-Americans.** Ethn Dis. doi: 18:384-388.
- Fabron, A., Baleotti, W., de Mello, A. B., Chiba, A. K., Kuwano, S., Figueiredo, M. S., & Bordin, J. O. (2004). **Application of noninvasive phagocytic cellular assays using autologous monocytes to assess red cell alloantibodies in sickle cell patients.** *Transfusion and apheresis science*, 31(1), 29-35.
- Gaston, M.H., Verter, J.I., Woods, G., Pegelow, C., Kelleher, J., Presbury, G., Zarkowsky, H., Vichinsky, E., Iyer, R., Lobel, JS., et al. (1986). **Prophylaxis with oral penicillin in children with sickle cell anemia. A randomized trial.** The New England Journal of Medicine. doi:19;314(25):1593-9.
- Girello, L., Ingrid, B.B.K., (2016). **Fundamentos de imuno-hematologia eritrocitária.** (4° edição). São Paulo: Senac São Paulo.
- Gonçalves MS, Bonfim GC, Maciel E, et al. (2003). **BetaS-Haplotypes in sickle cell anemia patients from Salvador, Bahia, Northeastern Brazil.** Braz J Med Biol Res. doi:36(10):1283-8.

- Harmening DM. **Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão**. 6ª edição. Rio de Janeiro: Revinter, 2015.
- Helman, Ricardo; Cançado, Rodolfo Delfini; Olivatto, Cristina. **Incidence of alloimmunization in sickle cell disease: experience of a center in São Paulo**. Einstein (São Paulo), v. 9, n. 2, p. 160-164, 2011.
- Kacker, S., Ness, P.M., Shirey, R.S., Savage, W.J., King, K.E., Tobian, A.A., (2015). **The future of red blood cell alloimmunization risk reduction**, Transfusion. 55(1):222-4. doi: 10.1111/trf.12866.
- Kangiwa U, Ibegbulam O, Ocheni S, Madu A, Mohammed N. **Pattern and prevalence of alloimmunization in multiply transfused patients with sickle cell disease in Nigeria**. Biomarker Res. 2015;3(26):1-6. <http://dx.doi.org/10.1186/s40364-015-0050-3>
- Matteocci, A., Pierelli, L., (2014). **Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease and in thalassaemia: current status, future perspectives and potential role of molecular typing**. Vox Sanguinis, 106: 197-208. doi: 10.1111/vox.12086.
- Michot, J.M., Driss, F., Guitton, C., Moh, Klaren, J., Lefebvre, F., Chamillard, X., Gallon, P., Fourn, E., Pela, A.M., Tertian, G., Le Bras, P., Chantalat-Auger, C., Delfraissy, J.F., Goujard, C., Lambotte, O. (2015) Transfusion Medicine Hemotherapy, 55(2):357-63. doi: 10.1111/trf.12875.
- Matsuura, M.M **Imunização Eritrocitária em Pacientes com Doença Falciforme no Estado do Amazonas**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências Hematológicas) - Universidade Federal de São Paulo.
- Murao, M.; Viana, M. B. **Risk factors for alloimmunization by patients with sickle cell disease**. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v. 38, n. 5, p. 675-682, 2005.



- Nagel RL. (1984). **The origin of the hemoglobin S gene: clinical, genetic and anthropological consequences.** *Einstein Quarterly Journal of Biology and Medicine*.doi:2:53-62.
- Naoum, Paulo Cesar. **Sickle cell disease: from the beginning until it was recognized as a public health disease.** *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia e Terapia Celular*, v. 33, n. 1, p. 7-9, 2011.
- Novaretti MC, Batissoco AC, Bueno VJ, Dorlhiac-Llacer PE, Chamone DAF. **Solving na ABO complex discrepancy by rapid genotyping using PCR-RFLP.** *Transfusion* 2000;40(suppl.:113S.)
- Ugwu, N. I., Awodu, O. A., Bazuaye, G. N., & Okoye, A. E. (2015). **Red cell alloimmunization in multi-transfused patients with sickle cell anemia in Benin City, Nigeria.** *Nigerian journal of clinical practice*, 18(4), 522-526.
- Pauling, L., Itano, H.A., et al., (1949). Sickle cell anemia a molecular disease. *Science*. 25;110(2865):543-8.
- Piel, B., Frédéric, Patil, P., Anand, Wouwes, E., Rosalind, Nyangiri, A., Oscar, Gething, W., Peter, Dewi, Mewahyu, Temperley, H., William, Williams, N., Thomas, Weatherall, J., David, and Hay, I., Simon, (2013). **Global epidemiology of sickle haemoglobin in neonates: a contemporary geostatistical model-based map and population estimates.** *Lancet Hematology*, 381(9861): 142-151. doi: 10.1016/SO140-6736(12)61229-x.
- Pinto,ACS, Zago MA. (2007). **Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos.** *Rev Bras Hematol Hemoter*; 29: 207-14.
- Pinto PCA, Braga JAP, Santos AMN. **Fatores de risco para aloimunização em pacientes com anemia falciforme.** *Rev Assoc Méd Bras*. 2011;57(6):668-73.
- Pirenne-Noizat, France, (2013). **Relevance of blood groups in transfusion of sickle cell disease patients.** *C R Biol: Comptes Rendus Biologies*, 336 (3): 152-158. doi: 10. 1016/j.crv.2012.09.11.

- Rees, C., David, Williams, N., Thomas, Gladwin, T., Mark, (2010). **Sickle cell disease**. *Lancet Hematology*, 376: 2018-2031. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61029-X.
- Reis, A.C.F. **O homem e a natureza na Amazônia**. Secretária de Imprensa e divulgação, Manaus, Am, 1996.
- Rosse, W. F. et al. **Transfusion and alloimmunization in sickle cell disease**. The Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *Blood*, v. 76, n. 7, p. 1431-1437, 1990.
- Sally, A., Campbell-Lee, Kittles, A., Rick, (2014). **Red Blood Cell Alloimmunization in Sickle Cell Disease: Listen to Your Ancestors**. *Transfus Med Hemother: Transfusion Medicine Hemotherapy*, 41:431-435. doi: 10.1159/000369513.
- Silva, J.A., et al., (2000). **The Ancestry of Brazilian mtDNA Lineages**. *The American Journal of Human Genetics: Home*, 67(2): 444-461. doi: 10.1086/303004.
- Spahn, D.R., Spahn, G.H., Stein, P. (2015). **Evidence base for restrictive transfusion triggers in high-risk patients**. *Transfus Med Hemother: Transfusion Medicine Hemotherapy*, 42(2):110-4. doi: 10.1159/000381509.
- Steinberg, M.H., (2008). **Sickle cell anemia, the first molecular disease: overview of etiology, pathophysiology, and therapeutic approaches**. *The Scientific World Journal*, 25;8:1295-324. doi: 10.1100/tsw.2008.157.
- Steinberg MH. (1994). **Sickle Cell Anemia and Fetal Hemoglobin**. *Am J Med Sci*; doi:308(5): 259-65.
- Tatari-Calderone, Z ., Luban, N .L ., Vukmanovic, S ., (2014). **Genetics of transfusion recipient alloimmunization: can clues from susceptibility to autoimmunity pave the way?** *Transfusion Medicine Hemotherapy*, 41(6):436-45. doi: 10.1159/000369145.
- Thibert, J.B., Danic, B ., Delamaire, M., Delugin, L ., Dugor, C ., Nimubona, S., Treussard, D ., Vasse J., Semana G., (2015). **Organization for the coverage of**

- the transfusional needs of patients with hemoglobinopathy at the Établissement français du sang Bretagne.** *Transfusion Clinique et Biologique*, 22(1):5-11. doi: 10.1016/j.tracli.2014.09.003.
- Vermeylen, C. (2013). **Sickle cell anaemia: current therapies.** *Transfusion and Apheresis Science*. 49(2):151-4. doi: 10.1016/j.transci.2013.07.018.
- Yazdanbakhsh, K., Ware, E., Russell, and Noizat-Pirenne, F., (2012). **Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease: pathophysiology, risk factors, and transfusion management.** *Blood*, 120 (3): 528-537. doi: 10.1182/blood-2011-11-327361.X.
- Wahl, S.K. Garcia, A. Hagar, W. et al., (2012). **Lower alloimmunization rates in pediatric sickle cell patients on chronic erythrocytapheresis compared to chronic simple transfusion.** *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. doi: 10.1159/000369513.
- Wang, W.C., Dwan, K., (2013). **Blood transfusion for preventing primary and secondary stroke in people with sickle cell disease.** *The Cochrane Colaboration*, 14;11:CD003146. doi: 10.1002/14651858.CD003146.
- Wong, T.E., Brandow, A.M., Lim, W., Lottenberg, R., (2014) **Update on the use of hydroxyurea therapy in sickle cell disease.** *Blood*, 18;124(26):3850-7; quiz 4004. doi: 10.1182/blood-2014-08-435768.
- Zanette, A. M. D., Gonçalves, M. D. S., Schettini, L. V., Aguiar, L. M., Bahia, R. C. S., Nogueira, L. A. V., Arruda, S. M. (2010). **Alloimmunization and clinical profile of sickle cell disease patients from Salvador-Brazil.** *Ethn Dis*. 2010 Spring;20(2):136-41
- Zembruski, V. M., Basta, P. C., Callegari-Jacques, S. M., Santos, R. V., Coimbra, C. E., Salzano, F. M., & Hutz, M. H. (2010). **Cytokine genes are associated with tuberculin skin test response in a native Brazilian population.** *Tuberculosis*, 90(1), 44-49.

Zheng, Y.; MAITTA, R. W. **Alloimmunisation rates of sickle cell disease patients in the United States differ from those in other geographical regions.** Transfusion Medicine, v. 26, n. 3, p. 225-230, 2016.



