

MARIA DAS GRACAS LOPES ALVES



ANTIENA DIEGO (D²) NA POPULAÇÃO DO CEARÁ

- Estudo realizado em pelo Serviço de Sangue em
Fortaleza - Ceará - BRASIL

Trabalho apresentado como re-
quisito final do Curso de Es-
pecialização em Hematologia e
Hemoterapia - Convênio UFC -
MEC - BID XIX.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

Fortaleza - Ceará

1.987

Dedicado à
LIA, DAVI e ALINE
compensação de todo o meu trabalho

A G R A D E C I M E N T O S

Ao meu Pai maior: Deus, que me deu a vida.

À Professora e amiga, Dra. Lise Mary Alves de Lima, pela orientação e incentivo, além da preciosa colaboração através do fornecimento do material (Soro Anti-Di^a) para a concretização deste trabalho.

À Professora Dra. Marfisa Neves Fujita, pela orientação e cooperação.

À Professora Dra. Helena Pitombeira, por sua valiosa ajuda na supervisão deste trabalho.

Aos Professores Dr. Mário Rigatto e Dr. Roberto Cláudio Bezerra que me ensinaram a trilhar o caminho da pesquisa.

Aos colegas de curso, cuja amizade e espírito de cooperação me deram forças para ir em frente.

À minha família, fonte de incentivo, ajuda e amor.

Í N D I C E

I - INTRODUÇÃO	01
II - REVISÃO DA LITERATURA	02
III - MATERIAL E MÉTODOS	04
IV - RESULTADOS	07
V - DISCUSSÃO	10
VI - SUMMARY	14
VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15

R E S U M O

Pesquisa realizada em 1.000 hemodoadores voluntários procedentes do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) e do Centro de Hemoterapia e Hematologia Ltda. (FUJI-SAN), com a finalidade de verificar a freqüência do antígeno Di^a na população do Ceará, considerada trihíbrida (negróides, causasóides e mongolóides).

Foram feitas considerações sobre o sistema DIEGO, sua descoberta e sua importância como marcador antropológico de populações mongolóides.

A freqüência encontrada na amostra foi de 2,9%, indicando o "componente índio" como um dos formadores raciais da população estudada.

I - I N T R O D U Ç Ã O

O sistema de grupos eritrocitários DIEGO, constituído por dois antígenos: Di^a e Di^b , é independente de outros sistemas sangüíneos conhecidos (ABO, Rh - Hr, MnSs, Fy^a , etc.) e ainda de sistemas de grupos de "baixa incidência", "privados" ou "públicos" (1, 18, 29, 33).

Os anticorpos anti- Di^a e anti- Di^b são desenvolvidos por aloimunização de maneira semelhante a que ocorre em outros sistemas sangüíneos. A imunização por gestação é realmente a mais frequente (12, 18, 21, 25, 27).

Sorológicamente, o anticorpo é de natureza IgG, reativo a 37°C, somente, em fase de antiglobulina (Teste de Coombs indireto) e não fixador de complemento. A única exceção, é a citada por Zmijewski (42), de um anticorpo "naturalmente ocorrente", detectado em salina a 22°C.

O propósito deste trabalho é verificar a frequência do antígeno Di^a na população do Ceará e, deste modo, fornecer subsídios para imuno-hematologistas e antropólogos no nosso meio.

II - REVISÃO DA LITERATURA

O antígeno Di^a foi mencionado pela primeira vez, em 1954 por Levine e Cols (32), como um "fator privado" ou "familiar", causador de doença hemolítica perinatal (DHPN) em um recém-nascido (RN), filho da Sra. Ca., residente na Venezuela. A denominação "Diego" foi dada em memória do recém-nascido morto de DHPN e sugerida e autorizada pelos seus pais (29).

Por ocasião de nova gestação da Sra. Ca., Layrisse e Cols. (24) aproveitaram o anti-Di^a presente em seu soro e o testaram na população venezuelana e em tribos indígenas. Assim procederam porque a região onde habitavam os ancestrais da Sra. Ca. era ocupada desde a era pré-colombiana, pelos índios Caribe. Foi constatado que o antígeno detectado pelo anticorpo anti Di^a, era muito difundido nessas populações e que se herdava como caráter dominante (29), fato também demonstrado por Layrisse e Arends (21).

Exaustivos estudos se seguiram e foi constatada uma positividade para os índios sul-americanos, variando de 4 a 48%, sendo a incidência semelhante onde os caracteres culturais e filiação lingüística eram idênticos (3, 16, 18, 30, 40).

Em 1956, japoneses e chineses racialmente puros, surpreendentemente, foram encontrados portadores deste antígeno, confirmando a hipótese antropológica de que os índios da América, são descendentes diretos dos mongolóides asiáticos (3, 17, 20, 34).

Estudos da freqüência do fator Diego, possibilitou dividir o grande tronco mongolóide. A incidência variável do antígeno permitiu formular teorias em relação às migrações dos mongolóides e a origem do Índio Americano:

- 1ª) Uma possibilidade é da "diluição do gen", que poderia explicar a menor incidência nos modernos chineses e japoneses (3, 20), mas não explicaria a ausência em mongolóides puros ou isolados, como são os esquimós e os Warran (26, 30, 31).

2ª) Outra possibilidade é de que os mongolóides não fossem um grupo uniforme e as várias tribos carregariam o fator em grau variável. As migrações de cada tribo em "ondas" sucessivas e períodos diferentes, explicariam a incidência em forma de mosaico, do antígeno Di^a em mongolóides asiáticos, oceânicos e americanos. Esta teoria é mais aceita atualmente (23).

Em caucasóides, o antígeno Di^a, tem frequência quase nula. Apenas três casos são relatados de DHPN em RN de mães européias. Investigações foram efetuadas, estando ausentes características mongolóides em seus ancestrais. Estes casos podem ser explicados pelas invasões mongólicas e pelas migrações internas maciças que ocorreram antigamente na Europa (10, 21).

Nos negróides, a frequência de Di^a é nula (15, 19, 22).

O antígeno Di^b foi posto em evidência por Thompson em 1967 (9). O estudo da transmissão genética deste novo antígeno mostrou que o mesmo estava sob a dependência de um gen alelo, o Di^a. O antígeno Di^b assim definido, permitiu individualizar o Sistema Diego (9, 37, 39).

III -- MATERIAL E MÉTODOS

1 - Causuística.

Foram realizadas tipagens sangüíneas para o Sistema Diego em 1.000 hemodoadores voluntários, dos grupos sangüíneos "O" e "B", nascidos no Ceará, divididos entre Capital e interior, provenientes do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) e do Centro de Hemoterapia e Hematologia Ltda.(FUJISAN), no período de março a abril de 1987. Para cada doador foi elaborada uma ficha contendo: o número da bolsa para coleta do sangue, nome completo, local do nascimento, a residência e a classificação de grupos sangüíneos ABO e o Fator Rho (D).

2 - Tipagem de ABO e Rho (D).

O Sistema ABO foi tipado para antígenos e anticorpos com glóbulos vermelhos padronizados: A₁, B e O e com soros anti-A, antiB e anti-AB.

Foi realizada a classificação do Rho (D) e em todos os casos de Rho (D) negativo, o Fator D^U foi determinado. Somente indivíduos D^U negativos, foram considerados Rho (D), negativos.

A amostragem foi composta de doadores pertencentes aos grupos sangüíneos "O" e "B" com Rho (D) positivo ou negativo. Este comportamento se fez necessário por ser o soro anti-Di^a, pertencente ao grupo sangüíneo "B", compatível com os grupos dos doadores prepostos.

3 - Soro anti-Di^a. Obtenção e Preparo.

O soro utilizado na pesquisa é proveniente de uma gestante aloimunizada, Sra. A.N., japonesa (marido da mesma origem), cujo recém-nascido teve RHDN, atendida no Hospital de Base do Distrito Federal.

Estudos preliminares deste soro foram feitos no Brasil (1) e constatarem a presença do anticorpo anti-Di^a, confirmada pelos Laboratoire d'Immunohématologie e Laboratoire de Référence pour les Groupes Sanguins, pertencentes ao Centre National de Transfusion Sanguine, França (Orsay e Paris).

O Dr. W. Lawrence Marsh, imuno-hematologista do The Lindsley F. Kimball Research Institute of the New York Blood Center, caracterizou o anticorpo como uma proteína IgG policlonal, subclasses IgG₁ e IgG₃, não fixadora de complemento. Quando hemácias Di^a foram bloqueadas pelo soro de A.N., contendo anti-Di^a e incubadas em seguida com macrófagos humanos, o índice de fagocitose dessas hemácias pelos macrófagos foi de 27%.

O soro anti-Di^a foi preparado antes do uso. Para cada 3ml do referido soro, foi adicionada 0,75ml de albumina bovina a 22% (BIOTESTE) diluída em salina.

4 - Técnica Utilizada.

As hemácias do doador foram suspensas a 5%.

Usamos uma gota de suspensão para uma gota do soro anti-Di^a, diluído, e incubado durante uma hora a 37°C. A mistura foi lavada três vezes com grande quantidade de salina fisiológica, juntando-se então, soro antiglobulina humana de amplo espectro (BASCA), seguido de centrifugação e leitura macroscópica(2).

Para cada lote de amostras foram feitos os controles negativo e positivo com hemácias padronizadas (Painel de identificação - BASCA).

5 - Metodologia da Análise Estatística dos Dados

A - A análise descritiva dos dados - Apresentamos tabelas e Gráficos.

B - Estimação - Estimamos a proporção de freqüências do antígeno Diego para os doadores nascidos em Fortaleza, no interior e no total (Capital e interior), usando os seguintes fatores:

Estimação por ponto

$$\hat{p} = \frac{\text{nº de doadores com antígeno Diego}}{\text{nº de doadores}}$$

Na estimação por intervalo, foi usado o intervalo de confiança para proporção a 5% de significância e escrito da forma:

$$\left[\hat{p} \pm Z_{\alpha/2} \sqrt{\frac{\hat{p}(1 - \hat{p})}{n}} \right] \quad \alpha = 0,05 \text{ e } Z_{\alpha/2} = \pm 1,96$$

C - Teste de Hipóteses - Em seguida verificamos se havia diferença significativa entre proporção de doadores nascidos na Capital e antígeno Diego e a proporção dos doadores nascidos no interior com antígeno Diego.

Para tal, usamos um teste Z para duas proporções, com N_1 e N_2 grandes, como se segue:

$H_0: P_1 = P_2$ (não existe diferença entre a proporção das populações, respectivamente, do interior e da Capital).

$H_A: P_1 \neq P_2$ (existe diferença entre as populações).

$$\alpha = 0,05$$

A estatística sob H_0 é dada por:

$$Z = \frac{\hat{p}_1 - \hat{p}_2}{\sqrt{\frac{P_1 (1 - P_1)}{n_1} + \frac{P_2 (1 - P_2)}{n_2}}}$$

e a estatística tabelada a 5%,

$$Z_{\text{tab}, 5\%} = \pm 1,96.$$

Se $[Z \leq -Z_c]$ ou $[Z \geq Z_c]$ Não significativa (~~h~~ diferença)

Se $[-Z_c < Z < Z_c]$ Significante (~~h~~ diferença)

IV - R E S U L T A D O S

O antígeno Di^a foi pesquisado em 1.000 doadores do HEMOCE e do FUJI-SAN, do grupo sanguíneo "B" e "O", sendo 64 (6,4%) mulheres e 936 (93,6%) homens.

Os 1.000 doadores foram distribuídos segundo o local de nascimento, com 344 (34,4%) casos procedentes de Fortaleza e 656 (65,6%) casos do interior do Estado. Um dos casos foi excluído por ser o doador natural de Cuiabá-MT, embora resida em Fortaleza há mais de 20 anos, ficando a amostra com um total de 999 casos.

Obs. O doador excluído da amostra é portador do antígeno Di^a.

Quanto ao grupo sanguíneo, 145 (14,5%) doadores pertencem ao grupo "B" e 854 (85,4%) ao grupo "O".

A distribuição de frequência do Fator Rho (D) foi assim determinada: 82 (8,2%) Rho (D) negativos e 917 (91,7%) Rho (D) positivos.

Foi encontrada uma positividade para o antígeno Diego em 29 (2,9%) doadores, sendo 1,5% procedentes da Capital e 3,7% do interior (Tabela 1, Gráfico 1).

Os 29 casos positivos foram distribuídos de acordo com o grupo sanguíneo, Fator Rho (D) e município de origem (Tabela 2).

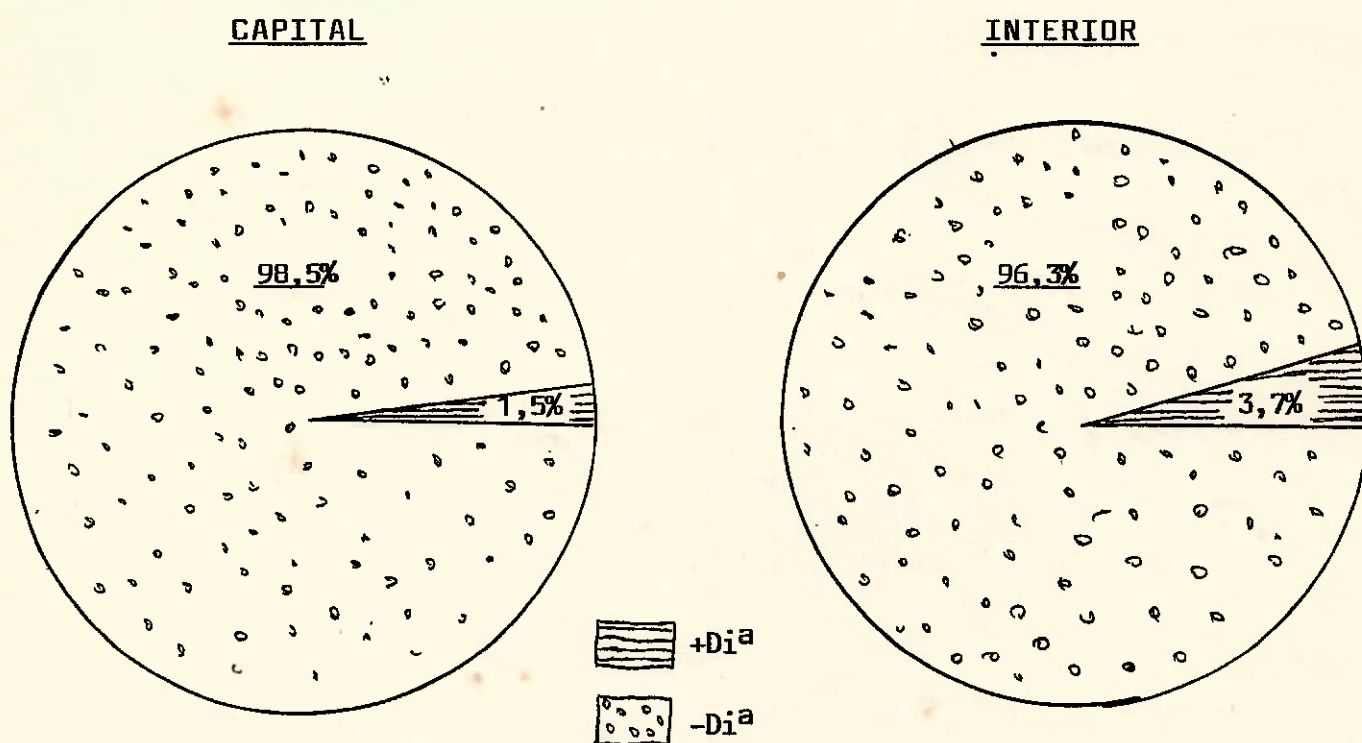
Resultados da Análise Estatística

Nessa amostra existe correlação entre as duas proporções testadas ao nível de 5%. Podemos observar nesse caso que a proporção de doadores nascidos na Capital e com antígeno Diego é menor que a proporção de doadores nascidos no interior e com antígeno Diego.

TABELA 1 - Distribuição de freqüência observando-se o número de casos positivos do Antígeno Diego, segundo o local de nascimento (capital e interior).

Local	Antígeno Diego		Total
	+	-	
. Capital	05	338	343
. Interior	24	632	656
. Total	29	970	999

GRÁFICO 1



Distribuição percentual dos casos positivos para o Antígeno Diego, segundo o local de nascimento (capital e interior).

TABELA 2 - Distribuição de freqüência observando-se o nº de casos positivos do Antígeno Diego, segundo sexo, grupo sanguíneo, Fator Rh e município de origem.

NOME DO DOADOR	SEXO	GRUPO SANGÜÍNEO Fator Rh	MUNICÍPIO
J. E. A.	M	O+	Juazeiro do Norte
E. G. S.	M	O+	Caucaia
F. J. S.	M	O+	Pentecoste
R. C. L.	M	B+	Caucaia
F. V. C.	M	O+	Ipu
J. P. S. F.	M	O+	Quixadá
F. E. S. L.	M	O+	Fortaleza
J. R. S.	M	O+	Fortaleza
F. W. A.	M	O+	Coreaú
E. S. M.	M	O+	Quixadá
R. N. R.	M	O+	Fortaleza
F. M. F. R.	F	O+	Fortaleza
V. P.	M	O+	Russas
F. S.	M	O+	São Benedito
J. M. B.	M	O+	Quixadá
J. R. S.	M	O+	Cascavel
A. F. C.	M	O+	Caucaia
F. A. R.	M	B+	Pacoti
J. A. G.	M	O+	Viçosa
A. O.	M	O+	Aratuba
M. R. S.	F	B+	Itapipoca
S. A. B.	M	O+	Mombaça
J. P. F.	M	O+	Senador Pompeu
J. B. F.	M	O+	Coreaú
L. A. F. C.	M	O+	Ubajara
M. N. B.	M	O+	Canindé
G. F. S.	M	O+	Fortaleza
J. M. F. L.	M	O+	Maranguape

V - D I S C U S S Ã O

Pesquisas realizadas em populações caucasóides, negróides, mongolóides e mestiças, resultaram no mapeamento do antígeno Di^a, em uma área que se estende da América do Sul à América do Norte (exceção feita aos esquimós), passando pelo nordeste da Ásia, incluindo China e Japão (31). A frequência parece decrescer em direção à parte sudeste da Ásia, tornando-se ausente nas populações oceânicas, ainda que essas populações tenham ancestrais mongolóides, como é o caso dos indonésios e polinésios. Não se conhece ainda a frequência no norte, centro e oeste da Ásia (31). (Quadro 1).

A ausência do antígeno Di^a nos povos do Pacífico, deve-se ao fato dos mongolóides que entraram na formação dos indonésios e polinésios não carregarem o fator, ou mais provavelmente o antígeno se encontrar em tão baixa frequência, que nenhum caso positivo foi encontrado entre as amostras testadas (17).

Para a ausência do antígeno Di^a nos esquimós foi levantada a suposição de que o antígeno Diego veio nas primeiras leva mongolóides do centro da Ásia para a América. Os esquimós, são da última migração mongolóide, não carregando o antígeno Di^a.

Na população indígena da América do Sul, a frequência do antígeno Di^a varia de 4 a 35,6% (22,24) e na mestiça esta variação é da ordem de 2,3% verificada em Caracas e 3,3% em Barcelona, cidades da Venezuela (24).

No Brasil, pesquisas realizadas em índios, mostrou uma frequência entre 30 a 46% (6, 13, 36, 38). Vale ressaltar que são as maiores incidências encontradas até o presente momento em populações mongolóides. Em mestiços brasileiros a frequência varia de 10 a 16%, tendo sido estas pesquisas realizadas no Amazonas, em Codajás e Manaus, sabendo-se que a população parda (branco + índio) nestes locais é da ordem de 60% da população geral (14).

O censo de 1980 (4) que dá informação sobre a composição racial da população do Ceará, atribui-lhe altas percentagens de pardos (70%), rubrica que inclui misturas: branco-preto-índio, em todas as nuances (41).

Os resultados de 2,9% obtidos na presente pesquisa, são semelhantes aos obtidos em Caracas (2,3%) e Barcelona (3,3%) e sensivelmente mais baixos que os observados no Estado do Amazonas (14).

O cruzamento com índios, antigamente abundantes nestas regiões, baixam ou até se tornam imperceptíveis atualmente (14, 24).

Foi feita a distribuição do Fator Rho (D) na amostra total e os resultados evidenciam a homogeneidade e representatividade da amostra se comparados com os resultados de P. C. Junqueira em grupos sangüíneos nordestinos (14).

Resultados mais significativos para o antígeno Di^a foram encontrados na população do interior do Estado, totalizando dezoito municípios (Figura 1) e foi constatado em cada um deles, como locais habitados antigamente por tribos indígenas (7).

Segundo o historiador Raimundo Girão (7, 11), os índios nordestinos são distanciados representantes de uma terceira corrente de povoadores da América, formando gente mesolítica e de origem siberiana, que depois de transposto o estreito de Bering, teriam percorrido o litoral americano do Pacífico e Atlântico, constituíram, possivelmente, um novo tipo étnico, o Nordesteño.

Esta pesquisa se torna importante para o nosso meio, alertando sobre a aloimunização (anti-Di^a) em gestantes e a ocorrência de DHPN pelo antígeno Diego, muitas vezes tratada como de etiologia desconhecida, dando novas informações aos Imuno-Hematologistas e Neonatologistas.

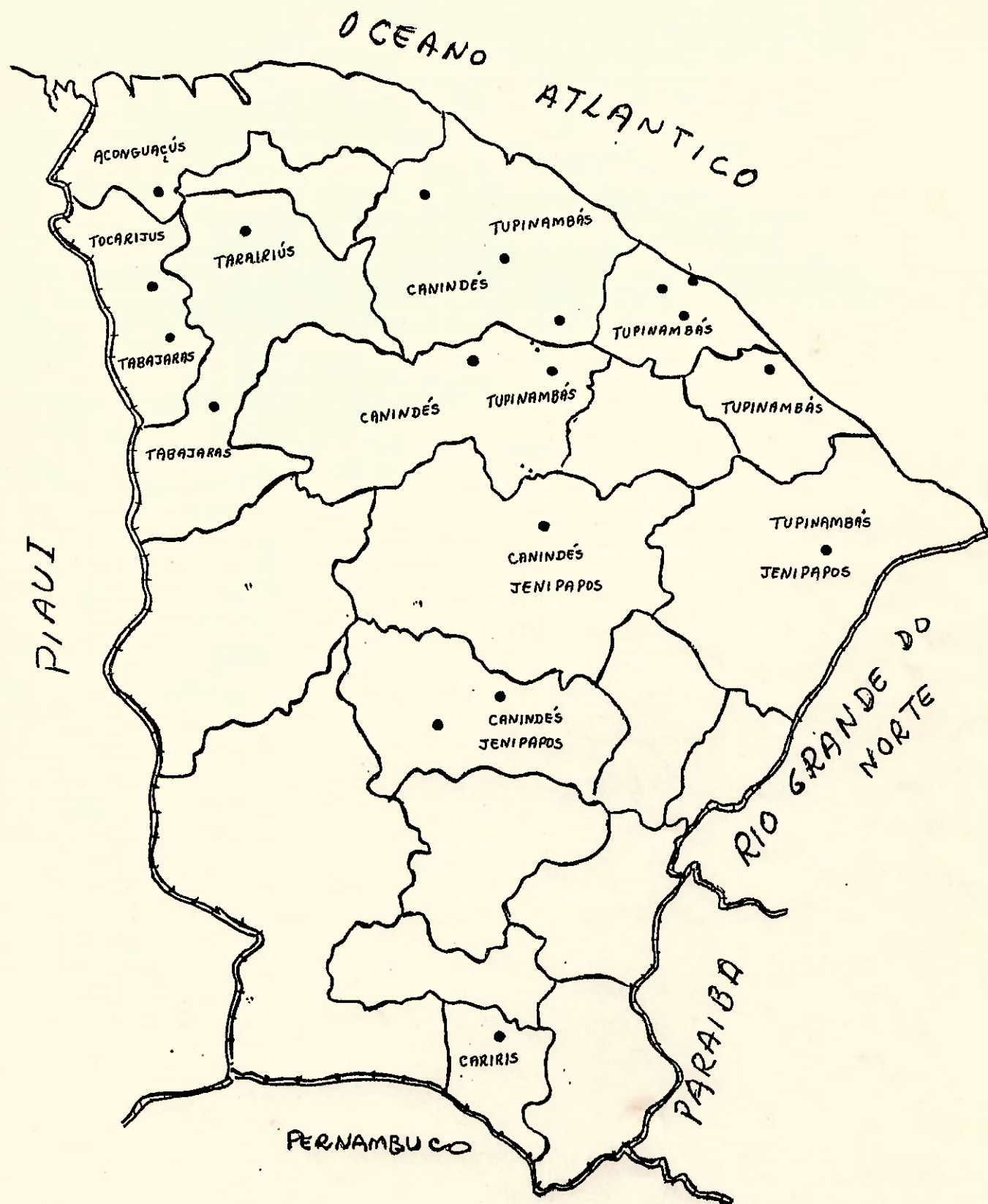
Na antropologia, este trabalho comprova teorias sobre a origem e etnia do Cearense.

Q U A D R O 1

Incidência do antígeno Di^a em vários grupos étnicos

GRUPO ÉTNICO	FREQÜÊNCIA (%)	REFERÊNCIA
<u>CAUCASÓIDES</u>	-	22
<u>NEGRÓIDES</u>		
Deste Africano (C.do Ouro e Marfim)	-	22
Canadá	-	22
Brasil	-	15
<u>MONGOLÓIDES</u>		
<u>Indígenas sul-americanos</u>		
. Brasil: Xavantes	30,80	6,38
. Carajás	36,11	13
. Caingangues	45,83	36
. Chile: Araucanos	4,00	22
. Peru: Quechuas	25,00	22
. Venezuela: Arawaco	5,00	24
. Caribe	35,54	24
<u>Indígenas norte-americanos</u>		
. Esquimós	-	35
. Estados Unidos	10,08-11,3	34,42
<u>Chineses</u>	5,00	3
<u>Japoneses</u>	8,00-13	3,5,34
<u>Povos do Pacífico</u>	-	22
<u>MESTIÇOS</u>		
Brasil: Codajás	10,87	14
Manaus	16,00	14
Venezuela: Caracas	2,30	24
Barcelona	3,30	24
Índios + Negros	7,70	24

FIGURA 1



- DISTRIBUIÇÃO DO ANTÍGENO Di^a SEGUNDO LOCAL DE NASCIMENTO
- Regiões habitadas antigamente por tribos indígenas

-  - Limite Interestadual
-  - Limite das Micro-regiões

VI - S U M M A R Y

Investigation realized in 1.000 voluntary blood donors from Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) and Centro de Hemoterapia e Hematologia Ltda. (FUJI-SAN), in order to verify the antigen Di^a frequency in the population of Ceará, considered trihybrid (negroids, caucasians, mongoloids).

There have been done considerations about the DIEGO System, its discovery and importance as an anthropologist marker of the mongoloid populations.

The frequency founded in the sample was 2,9% showing the "indian component" as one of the lineage formers of the studied population.

VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ALVES DE LIMA, L.M.; BERTHIER, M.E.; SAD, W.E.; DINAPOL, J.; JOHNSON, C.L., MARSH, W.L.: Characterization of an anti-Di^a antibody causing hemolytic disease in a newborn infant. Transfusion, 22: 246-247, 1982.
02. AMERICAN ASSOCIATION OF BLOOD BANKS.: Technical Manual, 7th ed. Washington D.C. The antiglobulin, 13:156-165, 1977.
03. ARENDS, T.; LAYRISSE, M.: Investigación del factos diego en japoneses y chinos. Acta. Cient. Venezuelana, 7:11, 1956.
04. CENSO DEMOGRÁFICO: IX Recenseamento Geral do Brasil - 1980. Rio de Janeiro. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (I.B.G.E.), Vol.I, Tomo 4, nº 9, 1982-1983.
05. CERQUEIRA, A.J.B.; JUNQUEIRA, P.C.; S.TSUND, T.: Grupos Sangüíneos dos sistemas ABD, Rh, Diego, em japoneses. Folha Médica, 57: 105, 1968.
06. GERSHOWITZ, H; JUNQUEIRA, P.C.; SALZANO, F.M.; NEEL, J.V. : Further studies on the Xavante Indians.III-Blood Groups and ABH-Le^a secretor types in the Simões Lopes e São Marcos - Xavantes. Am.J.Hum. Genet., 19: 502, 1967.
07. GIRÃO, R.: Evolução histórica Cearense. Fortaleza, BNB-ETENE, pag.14-22, 1985.
08. GOTTLIEB, A.M.: Hemolytic disease of the newborn due to anti-Di^b. Vox Sang, 21: 79-80, 1971.
09. GOUDEMAND, M. E. T. Y DELMAS-MARSALET.: Elements de Immuno-Hématologie. 3th Ed. Paris. Flammarion Médecine-Sciences, pg.110, 1974.
10. GRANINGER, W.: Anti-Di^a and the Di^a blood group. Antigen found in an Austrian family. Vox Sang., 31: 131, 1976.
11. INSTITUTO DO CEARÁ.: Pré-história Cearense, pag.120. Fortaleza, 1955. Citado em GIRÃO, R.: Evolução histórica Cearense. Fortaleza, BNB-ETENE, pag.14-22, 1985.

12. ISHIMORI, T.; FUKUMOTO, Y.; ABE, K.; NAKAJIMA, H.; NAKAMURA, H.; KASHIWADE, H.; YANAGIDA, J.; HASEKURA, H.; Rare Diego blood group phenotype $Di(a^+b^-)$. Anti- Di^b causing hemolytic disease of the newborn. Vox Sang., 31: 61-63, 1976.
13. JUNQUEIRA, P.C.; KALMUS, H.; WISHART, P.; P.T.C. Thresholds colour vision and blood factors of brazilian indians. II-Carajás. Am. J. Hum. Genet., 22: 22, 1957.
14. JUNQUEIRA, P.C.; OTTENSPPSER, F.; MONTENEGRO, L.; JUNQUEIRA, N.C.; CUNHA, A.B.: Grupos sangüíneos de Nordestinos. An. Acad. Bras. Ciências, 34: 143-152, 1962.
15. JUNQUEIRA, P.C.; WISHART, P.J.: Diego blood group in negro. Nature, 180: 341, 1957.
16. JUNQUEIRA, P.C.; WISHART, P.J.; OTTENSPOOSER, F.; PASQUALIN, R.; LOUREIRO FERNANDEZ, P.; KALMUS, H.: The Diego blood factor in Brazilian Indians. Nature, 177: 41, 1956.
17. LAYRISSE, M.: Anthropological considerations of the Diego (Di^a) antigen. Possible application in the studies of mongoloid and hybrid populations. Am.J.Phys.Anthropology, 16: 173, 1958.
18. LAYRISSE, M.; ARENS, T.: High Incidence blood group found in Venezuelan indians. Science, 123: 633, 1956.
19. LAYRISSE, M.; ARENDS, T.: Intento de clasificación de los grupos sangüíneos humanos. Ubicación del Sistema Sangüíneo Diego. Sangre, 1: 138-393, 1956.
20. LAYRISSE, M.; ARENDS, T.: The Diego blood factor in Chinese and Japanese. Nature, 177: 1083-1084, 1956.
21. LAYRISSE, M.; ARENDS, T.: The Diego system - Steps in the investigation of a new blood group system. Further studies Int. Soc. Blood Transf., 12: 115, 1957.
22. LAYRISSE, M.; ARENDS, T.: Estado actual de las investigaciones sobre el Factor Diego. Antropologica, 4: 17, 1958.
23. LAYRISSE, M.; ARENDS, T.: El sistema sangüíneo Diego - Consideraciones genética y antropológicas. Proc. Seventh Congress. Roma. Int. Soc. Blood Transf., pag.277, 1958

24. LAYRISSE, M.; ARENDS, T.; DOMINGUEZ SISCO, R.: Nuevo grupo sanguíneo encontrado en descendientes de indios. Acta Med. Venezolana, 3: 132, 1955.
25. LAYRISSE, M.; ARENDS, T.; DOMINGUEZ SISCO, R.: Investigación del factor Diego en indios Venezolanos. Importancia Clínica y Antropologica. Memorias del VII Cong. Venez. Ciencias Medicas, 2: 773, 1956.
26. LAYRISSE, M.; ARENDS, T.; WILBERT, J.: Peculiar distribution of the Diego factor among the Warran. Nature, 181: 118-119, 1958.
27. LAYRISSE, M.; LAYRISSE, Z.; WILBERT, J.: Etapa alcanzada en los estudios del antígeno Diego (Di^a). Acta Cient. Venezolana, 1: 102-112, 1963.
28. LAYRISSE, M.; SANGER, R.; RACE, R.R.: The inheritance of the antigen Di^a. Evidence for its independence of other blood group systems. American Journal of Human Genetics, 11: 17-25, 1959.
29. LAYRISSE, M.; WILBERT, J.: El Antígeno del Sistema Diego. 1^a Ed. Caracas, Venezuela. Editora Sucre, 67-144, 1960.
30. LAYRISSE, M.; WILBERT, J.: Absence of the Diego antigen, a genetic characteristic of early immigrants to South America. Science, 134: 1077, 1961.
31. LAYRISSE, M.; WILBERT, J.: Diego blood system. Anthropologic significance of the Di^a specially in American Indians. Proc. 8th Congr. Tokio, 1960. Int. Soc. Blood Transf., 136-139, 1962.
32. LEVINE, Ph.; KOCH, E.A.; MCGEE, R.T.; HILL, G.H.: Rare Human isoagglutinins and their identification. Amer. J. Clin. Path., 24: 292, 1954.
33. LEVINE, Ph.; ROBINSON, E.A.; LAYRISSE, M.; ARENDS, T.; DOMINGUEZ SISCO, R.: The Diego Blood Factor. Nature, 117: 40, 1956.
34. LEWIS, M.; AYUKAMA, H.; CHOWN, B.: The blood group Diego in North American Indians and in Japanese. Nature, 177: 1084, 1956.

35. LEWIS, M.; CHOWN, B.; KAITA, H.; Further observations on the blood factor Di^a. Nature, 178: 1125, 1956.
36. LOUREIRO FERNANDES, J.; JUNQUEIRA, P.C.; KALMUS, H.; OTTENSDOSER, F.; PASQUALIN, R.; WISHART, P.: P.T.C. Thresholds colour vision and blood factors of Brazilian Indians. I-Kaingangs. Am. J. Hum. Genet., 22: 16-21, 1957.
37. MOLLISON, P.L.: Blood Transfusion in Clinical Medicine, 7th ed., Oxford. Blackwell Scientific Publications, 9: 370-371, 1983.
38. NEEL, J.V.; SALZANO, F.M.; JUNQUEIRA, P.C.; MAYBURY, D.: Studies on the Xavante Indians of the Brazilian Mato Grosso. Amer. J. Hum. Genet., 16: 52-140, 1964.
39. PITAGLIO, D.H.: Modern Blood Banking and Transfusion Practices. Philadelphia. F.A. Davis Company, 1984.
40. PROKOP, O.: Los Grupos Sangüíneos Humanos, 2ª Ed. Editorial Científico-Médica. España, pag. 89-91, 1970.
41. SALDANHA, P.H.: Os componentes raciais das populações nordestinas. Ciência e Cultura, Vol.14, nº2, 1962.
42. ZMIJEWSKI, C.M.; FLETCHER, J.L.: Immunohematology. 2ª Ed. New York. Appleton-Century-Crofts, Educational Division, Meredith Corporation, pag.170, 1972.