

ELISABETE TEREZINHA SANTOS DE PAULA LEAL

**PESQUISA DE ANTICORPOS IRREGULARES
EM PACIENTES PEDIÁTRICO
POLITRANSFUNDIDOS**

Fortaleza
1997

- Boa linguagem
- Boa revisão
- Boa discussão
- Boa bibliografia
- Conclusões: Ruim. O q concluiu não provem do trabalho. r.
- Bom trabalho técnico

ELISABETE TEREZINHA SANTOS DE PAULA LEAL
- MÉDICA PEDIÁTRA -

PESQUISA DE ANTICORPOS IRREGULARES
EM PACIENTES PEDIÁTRICO
POLITRANSFUNDIDOS

Trabalho apresentado como requisito final ao
XI Curso de Especialização de Hematologia e
Hemoterapia.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
- HEMOCE -

Fortaleza-Ceará
1997

**“A vida é a arte do encontro, embora
hajam tantos desencontros pela vida”.**

V.Morais

AGRADECIMENTOS

- Às colegas e amigas do curso de especialização, Dra. Ana Paula Nunes Constâncio e Dra. Denise Teixeira pela longa caminhada e apoio nesta jornada.
- Às amigas e colegas hematologistas, Dra. Nádia, Dra. Selma Lessa, Dra. Ideleide pontes, Dra. Sara Duarte, Dra. Ângela Diógenes, Dra. Márcia e Dr. Daniel Lustosa pelo incentivo à minha especialização.
- À Dra. Vilany Franco Pereira da Silva pela paciência e encorajamento durante todo curso e execução do trabalho.
- Ao Dr. Jesamar Correia Matos pela amizade e orientação desprendidas no curso de especialização e neste trabalho.
- À minha professora Lúcia Maria de Holanda Beltrão pela participação em minha formação básica.
- À Dra. Francisca Vânia Barreto Ferreira Gomes pela dedicação e desempenho no curso de especialização.
- Ao Dr. José Murilo Martins, mestre sábio, pelo pioneirismo.
- Aos orientadores e funcionários do HEMOCE que estiveram presentes durante esta jornada.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

- Aos meus pais Auzier Araújo Santos e Elizabeth Terezinha de Jesus Santos pela presença constante em minha vida.
- Ao meu filho Guilherme pelo incentivo e carinho presentes em todos os momentos de minha vida.
- Ao meu esposo Oberes de Paula Leal Filho pelo companheirismo em minha jornada.

ÍNDICE ✓

	pag.
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 MATERIAL E MÉTODO.....	06
3 RESULTADOS.....	07
4 DISCUSSÃO.....	10
5 CONCLUSÃO.....	11
6 ABSTRACT.....	12
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13

RESUMO

* PESQUISA DE ANTICORPOS IRREGULARES EM PACIENTES PEDIÁTRICOS POLITRANSFUNDIDOS

** Elisabete Terezinha Santos de Paula Leal.

Foram analisadas amostras de 27 crianças politransfundidas portadoras de doenças hematológicas não neoplásicas do ambulatório do hospital infantil Albert Sabin (setor de onco-hematologia) assim como 27 crianças de um grupo controle colhidas no mesmo setor. Do grupo em estudo 25 eram não brancas (92,59%) e 2 brancas (7,41%). Do grupo controle, 27 (100%) eram não brancas. A idade variou entre 1 ano e 15 anos com uma média de 8,3 anos para o grupo em estudo e 6,8 anos para o grupo controle. 17 (62,96%) do grupo em estudo eram do sexo masculino e 10 (37,04%) do sexo feminino. No grupo controle 9 (33,33) eram do sexo masculino e 18 (66,67%) do sexo feminino. Os pacientes do grupo em estudo eram portadores de doenças hemolíticas constitucionais entre outras hematológicas: anemia falciforme, talassemia, esferocitose, anemia aplástica e hemofilia. O grupo controle era constituída de púrpuras, traço thalassêmico, talassemia, deficiência de G-6-PD, esferocitose e hemoglobinopatias SC e SS. O número de transfusões realizadas no grupo em estudo variou de 3 a 38 com um total de 214 transfusões. O grupo controle foi constituído por pacientes sem transfusões prévias. Do grupo controle nenhum * paciente apresentou positividade para anticorpos irregulares. No grupo em estudo, 2 pacientes tiveram positividade aos antígenos N e CD.

* Trabalho apresentado como requisito final ao Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia

** Médica-Pediatra, aluna do XI Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia.

*

1 INTRODUÇÃO

O sistema imunológico composto basicamente por linfócitos, plasmócitos e macrófagos entre outros e ainda por um componente humoral (anticorpos e complemento) é responsável pela manutenção da integridade corporal, reconhecendo e destruindo partículas estranhas a este.^{1,2}

O aparelho celular deste sistema é oriundo de uma célula mãe progenitora que ao seguir no seu processo de maturação culmina, em um de seus vários caminhos, na formação de linfócitos que por sua vez, em recebendo influência tímica, transforma-se em linfócitos T de imunidade celular ou de suporte da humoral, e linfócitos B na imunidade humoral propriamente dita. Os linfócitos B têm propriedades de detecção de substâncias estranhas através de receptores de superfície de membrana, modificando-se morfológica, química e estruturalmente gerando plasmócitos que multiplicam-se em uma população produtora de anticorpos com especificidade àquele antígeno que chamamo-nos de imunógeno. Os linfócitos T podem modular esta reação imunológica. É conveniente lembrar que tudo isso está sob regência genética.^{3,4}

Os anticorpos são estruturas protéicas constituídas por quatro cadeias polipeptídicas de diferentes pesos moleculares. As cadeias leves, em número de duas, tem em torno de 25.000 daltons enquanto que as pesadas variam de 50.000 a 70.000 daltons. Cinco diferentes tipos de cadeias pesadas determinam os diferentes tipos de imunoglobulinas conhecidas como IgG, IgA, IgM, IgD e IgE.

As cadeias leves são denominadas kappa e lambda, estando relacionadas com a imunogenicidade juntamente com uma das extremidades da cadeia pesada unidas por pontes de dissulfeto que chamamos de fragmento Fab.^{5,6}

Os anticorpos podem ainda ser classificados de acordo com o seu modo de aparecimento no organismo. São ditos anticorpos naturais regulares aqueles que já estão presentes independente de uma exposição prévia ou pelo menos conhecida. Anticorpos naturais irregulares são aqueles que surgem como consequência da presença de um antígeno nunca outrora presente naquele organismo. Este tipo de resposta imunológica se dá com o surgimento a princípio de anticorpo da classe IgM e posteriormente IgG. Para os anticorpos naturais regulares IgM responde pela reação bioquímica. Como exemplo temos a reação de anticorpo contra antígenos eritrocitários. Anticorpos imunes autólogos surgem contra a própria estrutura antigênica do organismo que antes não possuía atividade imunogênica (doenças auto-imune).

A resposta imune do organismo aos antígenos eritrocitários ocorre por volta da terceira a décima terceira semana da exposição com o aparecimento de baixos títulos de IgM seguido de um pico rápido e elevado de IgG (resposta secundárias) quando exposto por uma segunda vez.

Antígenos eritrocitários são estruturas protéicas ou glicolípídicas de localização sobre a superfície da hemácia com peso molecular em torno de 10.000 daltons.

Os antígenos do sistema ABO, carboidratos, surgem sob influência de um gene H codificando a transformação enzimática de um carboidrato noutra denominado antígeno H. A presença de m gene A e/ou B determina uma nova conversão enzimática gerando uma nova estrutura antigênica. Ag A e Ag B. Essa conversão não é total restando sempre remanescente de atividade antigênica H. Na ausência destes dois últimos genes supracitados obtém-se o fenótipo "O" resultado da presença de um par de gens amorfos que não acarretam qualquer alteração do antígeno H. Esse carboidratos ligam-se a ácidos graxos de membrana formando os glicolípides.^{10,11} Estas estruturas glicolípídicas possuem subdivisões outras, entretanto como mencionado anteriormente, relacionam-se com anticorpos naturais regulares.

Anticorpos irregulares podem ser evidenciados em várias estruturas antigênicas protéicas de membrana. Estas reações só vieram ao conhecimento a partir de 1939 quando pela primeira vez Levine e Stetson observaram reação transfusional hemolítica frente a uma compatibilidade ABO. Desde então várias estruturas antigênicas vem sendo identificadas e enumeradas como causadoras destas reações.

O sistema Rh, após modificações sucessivas em sua terminologia, agrupou os antígenos D, C, c, e, E e um último dimorfo "d". A expressão do primeiro "D", pode ainda ser baixa, necessitando de técnicas complementares para sua detecção. Daí a complementação da terminologia com a variante chamada D^u ou mais recentemente D fraco. A identificação só é possível com o

teste indireto de antiglobulina humana (coombs). Desta forma todos os soros D negativo devem ser submetidos a esta prova.^{12,13,14,15}

Sistemas antigênicos outros, de menor importância quando comparado ao sistema Rh mas de grande importância clínica e laboratorial, estão amplamente difundidos variando de uma alta a baixa frequência. O sistema Kell possui um complexo de determinante antigênico cada vez mais conhecido desde a sua descrição em 1946 estando também sob determinação genética. Altamente imunogênico, pode ser responsável por um quadro de doença hemolítica no recém-nascido e reação hemolítica transfusional retardada.¹⁶ O sistema Duffy foi descrito com a identificação de dois antígenos principais Fya e Fyb e estão presentes com mais frequência na raça negra.¹⁷ O sistema Kidd é composto por dois antígenos principais e também correlaciona-se com doença hemolítica no recém-nascido e reação hemolítica transfusional retardada bem como o sistema Lutheran.¹⁸ O sistema MNS foi o segundo a ser descoberto, em 1927, por Landsteiner e Levine. Seu modo de transmissão é tão direto e previsível que tornou-se de grande utilidade nas investigações médico-legais. É responsável pelo aparecimento de reações transfusionais importantes devendo assim ser tipado quando houver imunizações prévias.¹⁹ O sistema Lewis por sua vez está presente de forma diferente no organismo, pois em vez de integralizarem-se nas membranas, estão apenas a elas absorvidas, daí poderem destacar-se e estar presente nas secreções e plasma. Seus antígenos são basicamente carboidratos e não estão presentes nas membranas logo após o nascimento, aparecendo somente

em torno de dois a três anos de idade. Podem ser responsáveis por graves crises hemolíticas transfusionais.

2 MATERIAL E MÉTODO

Foram coletadas amostras de sangue de 27 crianças politransfundidas portadoras de doenças hematológicas não neoplásicas do hospital infantil Albert Sabin (ambulatório de onco-hematologia) portadores de anemia falciforme, talassemia, esferocitose, anemia aplástica e hemofilia. Destas 25 (92,59%) e 2 (7,4%) eram brancas. 17 (62,96%) eram do sexo masculino e 10 (37,04%) do sexo feminino. A idade variou entre 1 ano e 15 anos com uma média de 8,3 anos.

O grupo controle, sem transfusões prévias, foi montado com pacientes do mesmo serviço, portadores de doenças hematológicas, entre elas, anemia falciforme, talassemia, esferocitose, anemia aplástica e hemofilia. 27 (100%) eram não brancas. 9 (33,33%) eram do sexo masculino e 18 (66,67%) do sexo feminino. A idade variou entre 1 e 15 anos com uma média de 6,89. O número de transfusões do grupo em estudo variou de 3 a 38 com um total de 214.

A coleta de sangue foi realizada para os dois grupos com EDTA num volume de 3ml seguindo direto ao laboratório para análise. Após uma centrifugação por dez minutos a 3.500 rpm coletou-se 50mcl de plasma transportando ao microtubos de hemácias (DiaMed-ID / DiaCell I + II) com posterior incubação a 37 graus por dez minutos, nova centrifugação e posterior leitura. A positividade (presença de aglutinação nos microtubos) foi encaminhada ao painel de hemácias (DiaMed-ID / ID-DiaPanel-P) para identificação do anticorpo.

3 RESULTADOS

O grupo controle apresentou negatividade para todas as amostras analisadas. O grupo em estudo apresentou negatividade em 25 (92,5%) amostras e positividade em 2 (7,5%). Estas eram de pacientes com três e sete transfusões. A primeira foi positiva para a hemácia I e identificada no painel como anti-N e a segunda nas hemácias I e II e identificada como anti-CD. (Tabela I e II).

TABELA 01 - Pesquisa de anticorpos irregulares em pacientes politransfundidos.
 Distribuição quanto a idade, sexo, cor e número de transfusões.

Paciente	Idade em anos	Sexo	Cor	Número de transfusões	Positividade
01	15	F	NB	07	+
02	15	M	NB	04	-
03	12	M	NB	05	-
04	03	M	NB	04	-
05	02	M	NB	17	-
06	12	M	NB	04	-
07	12	M	NB	03	-
08	11	M	NB	03	-
09	04	M	NB	08	-
10	03	M	NB	10	-
11	12	M	NB	06	-
12	06	M	NB	04	-
13	04	M	NB	38	-
14	02	M	B	03	+
15	04	F	NB	15	-
16	09	M	NB	10	-
17	15	M	NB	06	-
18	04	M	NB	12	-
19	13	M	NB	03	-
20	07	F	NB	04	-
21	09	F	NB	05	-
22	01	F	NB	03	-
23	01	F	NB	03	-
24	10	F	NB	04	-
25	10	F	NB	06	-
26	06	F	NB	05	-
27	14	M	NB	22	-

TABELA 02 - Pesquisa de anticorpos irregulares no grupo controle.
Distribuição quanto a idade, sexo, cor e número de transfusões.

Paciente	Idade em anos	Sexo	Cor	Número de transfusões	Positividade
01	01	M	NB	00	-
02	08	M	NB	00	-
03	12	F	NB	00	-
04	11	F	NB	00	-
05	10	F	NB	00	-
06	03	F	NB	00	-
07	03	F	NB	00	-
08	07	F	NB	00	-
09	04	F	NB	00	-
10	07	F	NB	00	-
11	03	F	NB	00	-
12	02	M	NB	00	-
13	03	M	NB	00	-
14	06	M	NB	00	-
15	10	M	NB	00	-
16	07	M	NB	00	-
17	10	F	NB	00	-
18	10	F	NB	00	-
19	07	F	NB	00	-
20	10	F	NB	00	-
21	10	F	NB	00	-
22	03	F	NB	00	-
23	04	F	NB	00	-
24	11	F	NB	00	-
25	15	M	NB	00	-
26	02	M	NB	00	-
27	07	F	NB	00	-

4 DISCUSSÃO

A presença de anticorpos em soros de pacientes receptores de unidades de sangue é na verdade já estabelecida e com significado clínico importante. Hemotransfusões são responsáveis por isoimunizações que de certa forma são previsíveis ou com potencial para tal. *

Os nossos pacientes pediátricos politransfundidos apresentaram positividade para os antígenos N e CD e houve uma concordância com os resultados de outro trabalho²¹ em termos estatísticos onde em 98 pacientes estudados, 6 apresentaram positividade para pesquisa de anticorpos irregulares.²¹

Anti-N, apesar de ser um anticorpo raro esteve presente em nossa positividade (50%) mas sem significado estatístico. Este anticorpo é dito raro por provável alto índice da presença deste antígeno na população.

Os antígenos CD do sistema Rh são de grande importância e de alta incidência por se tratar de imunógenos potentes capazes de causar reações transfusionais graves.²²

Não encontramos trabalhos semelhantes na literatura para uma maior análise comparativa quanto a concordância de dados estatísticos.

5 CONCLUSÃO

Anticorpos irregulares são de ocorrência freqüente em pacientes que recebem hemotransfusões, em especial aqueles pós transfundidos (mais de duas transfusões). A presença destes anticorpos podem inviabilizar futuras necessidades deste procedimento.

O exame de triagem voltado apenas para o sistema ABO e Rh pode ser insuficiente para uma melhor qualidade de tratamento de suporte para esses pacientes e trabalhos neste sentido abrem horizontes para uma maior discussão e extensão posterior das provas de compatibilidade.

6 ABSTRACT

It was analyzed samples of 27 children politransfused or patients with hematological illness not neoplastic of Albert Sabin Hospital's ambulatory service. Others 27 children of a control group were analyzed of patients not transfused. From the first group, 25 (92,59%) were not white and 2 (7,41%) white. The second group 27 (100%) were not white. The age had a variation of 1 year old to 15 for the two groups. 70 (62,96%) of the first group were male and 10 (37,04%) female. In the other group 9 (33,33%) were male and 18 (66,67%) female. These patients had hemophilia, aplastic anemia, thalassemia, espherocitose, purpura and others not neoplastic. The number of transfusions in the study group had a variation from 3 to 38. In the first group was founded a positivity in two patients for the antigens N and CD. The group control didn't have positivity.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BELLANTI, J. A., ROCLIN, R. E., Cell - mediated immune reactios. In BELLANTI, J. A. Immunology III. WB Saunders, Philadelphia, p. 176, 1985.
2. GOUST, J. M., Cell - mediated immunity. In Virella. G., FUNDENBERG, H. H., PATRICK, C. C. Introduction to Medical Immunology - Marcel Derker, New York, p. 169, 1986.
3. WOODY, J. N., BELLANTI, J. A., SELL, K.W. Immunogenetics. In BELLANTI, J. A. Imunnology III. WB Sounders, Philadelphia, p.54, 1985.
4. SCHWARTZ, B. D. The Human Majos Histocompatibility HLA complex. In STITES, D. P., STOBO, J. D., WELLS, J. V. Basic and Clinical Immunology. P.50, 1987.
5. BENIER, G. M. Antibodie and Immunoglobulins. Structure and Function. In BELLANOTI, J. A. Immunology III. W. B. Saunders, Philadelphia, p. 89, 1985.
6. GOODMAN, J. W. Immunoglobulins I. Strocture and Function. In STITES D. P., STOBO J. D., WELLS, J. V. Basic and Clinical Immunology, ed.

G. Appleton & Lange, Los Alamos C.A., p. 27, 1987.

07. ROITT, Essential Immunology, 5th ed. Oxford. Blackwell Scientific Publications, 1987.
08. BIRD, G.W.G., TOVEY, G.H. The Blood Groups. HERDISTY, R. M., WEATHERALL, D. J. Blood and Disorders, ed.2. Blackwell Scientific Publications, Boston, p. 1393, 1982.
09. WATKINS, M. Blood - Group substances - Science. P.152-172, 1966.
10. ORIOL, R., DANILOUS, J., HAWKINS, B.R. A new genetic model proposing that the *se* gene is a structural gene closely linked to H gene. Am J. Hum. Genet. 1981, v.33, p. 421-32.
11. MULET, C., CARTRON, J. P., BADET, J., SALMON, C. Activity of α - 2 - L - fucosyltransferase in human sera and red cells membranes. A study of common ABH blood donors, rare <<Bombay>> and <<paraBombay>> individuals. FEBS Lett, p.84-74, 1977.
12. LEVINE, P., STETSON, R.E. An unusual case of intragroup agglutination. J. Amer. Med. Ass. P.113-126, 1939.
13. LANDSTEINER, K., WIENER, A. S. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for Rhesus blood. Proc. Coc. Exp.

Biol. N. Y., v.43, p.233, 1940.

14. ROSENFELD, R. E., ALLEN, F. H. JR., SWISHER, S. N. et. al. A review of Rh serology and presentation of new terminology. Transfusion, v.,2, p.287, 1962.
15. RACE, R.R., SANGER, R. Blood Groups in Man, 5th ed. Philadelphia, F.A. Davis, 1968.
16. CHOWN, B., LEWIS, M., KATIA, H. A "new" Kell blood group phenotype. Nature. P.180-711, 1957.
17. IKIN, E. W., MOURANT, A.E., PETTENKOFER, H., BLUMENTHAL, G. Discovery of the expected hemagglutinin, Anti-Fy^b. Nature. V.168, p.1077, 1951.
18. MARSH, W.L. Recent developments relating to the Duffy and Lutheran blood groups. American Association of blood Banks, pre-convention seminar, 1973.
19. HYSELL, J.K., GRAY, J. M., BECK, M.L. Auto-anti-N, na additional example. Transfusion. V.14, p.72, 1974.
20. SMJEWSKI, C.M., FLETCHER, J.L. Immunohematology, 2ND ed. New York. Appleton Century-Crofts, 1972.

21. JORGE, F.M. Pesquisa de Anticorpos Irregulares em Politransfundidos - Trabalho apresentado como requisito final do curso de hematologia e hemoterapia, 1989.
22. KOMATSU, F. Incidence of Rh anti-E and anti-c production among japanese after blood transfusion. Bull. Tokyo Med. Dent. Univ., 35(3), p.75-9, sept., 1988.