

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

**IMUNOFENOTIPAGEM ERITROCITÁRIA DOS DOADORES DE SANGUE
DO HEMOCE**

CLARICE DANIELE ALVES DE OLIVEIRA COSTA

**FORTALEZA – CEARÁ
2001 / 2002**

CLARICE DANIELE ALVES DE OLIVEIRA COSTA

**IMUNOFENOTIPAGEM ERITROCITÁRIA DOS DOADORES DE SANGUE
DO HEMOCE**

**TRABALHO APRESENTADO COMO
REQUISITO FINAL DO CURSO DE
ESPECIALIZAÇÃO EM
HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA.**

**Orientador:
Dra. Vilany Franco**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FORTALEZA – CEARÁ
2001 / 2002**

A Deus e à minha família.

AGRADECIMENTOS

- À Dra. Vilany Franco, pela orientação e ajuda na elaboração desta pesquisa.
- Aos funcionários do setor de Coleta do HEMOCE, pela obtenção dos doadores supostamente aptos à pesquisa.
- Aos funcionários do setor de Imunohematologia que contribuíram na realização deste trabalho.
- Aos colegas do curso, pelos bons momentos que passamos juntos.
- Ao meu marido, pelo apoio dado a mim desde o início.

Tudo posso nAquele que me fortalece. (Filipenses 4:13)

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

RESUMO

I. INTRODUÇÃO	10
II. REVISÃO DE LITERATURA	11
III. MATERIAL E MÉTODOS	30
IV. RESULTADOS	33
V. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	39
VI. CONCLUSÃO	43
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Grupos sanguíneos reconhecidos pela International Society for Blood Transfusion, com os respectivos símbolos, número de antígenos em cada sistema e o produto gênico.

Tabela 2- Distribuição dos 1483 doadores de sangue do HEMOCE quanto ao sexo.

Tabela 3- Classificação sanguínea ABO e Rh(D) dos 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídos quanto ao sexo.

Tabela 4- Freqüências fenotípicas do Sistema Rh em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 5- Freqüências fenotípicas do Sistema Duffy em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 6- Freqüências fenotípicas do Sistema Kidd em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 7- Freqüências fenotípicas do Sistema MNS em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 8- Freqüências fenotípicas do Sistema P em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 9- Frequências fenotípicas do Sistema Kell em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 10- Freqüências fenotípicas do Sistema Lewis em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 11- Freqüências fenotípicas do Sistema Lutheran em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 12- Freqüências fenotípicas dos Sistemas Duffy, Kidd, Lewis, P e Kell dos 1483 doadores de sangue do HEMOCE e de outras regiões do Brasil.

IMUNOFENOTIPAGEM ERITROCITÁRIA DOS DOADORES DE SANGUE DO HEMOCE*

CLARICE DANIELE ALVES DE OLIVEIRA COSTA**

RESUMO

A descoberta do grupo sanguíneo ABO por Karl Landsteiner, há aproximadamente cem anos, mudou a história da Hemoterapia. Quarenta anos após, Levine e Stetson descreveram a primeira reação hemolítica transfusional numa paciente que recebeu sangue ABO compatível, definindo, anos mais tarde, o grupo sanguíneo Rh. Tais descobertas causaram grande impacto na sobrevida dos receptores de hemoterápicos, diminuindo a incidência de morbimortalidade por acidentes transfusionais^(01, 22, 27).

A imunofenotipagem eritrocitária dos doadores de sangue para os grupos ABO e Rh já faz parte da rotina dos hemocentros em todo o mundo. Contudo, a fenotipagem eritrocitária para os outros sistemas de grupos sanguíneos (Duffy, Kell, Kidd, Lewis, Lutheran, MNS, P) é de grande importância, frente às aloimunizações em potencial.

Neste trabalho, 1483 doadores de sangue do HEMOCE foram fenotipados para os seguintes sistemas de grupos sanguíneos:

- Rh (Antígenos RH 1, RH 2, RH 3, RH 4, RH 5, RH 8);
- Duffy (Antígenos FY 1 e FY 2);
- Kell (Antígeno KEL 1);
- Kidd (Antígenos JK 1 e JK 2);
- Lewis (Antígenos LE 1 e LE 2);
- Lutheran (Antígenos LU 1 e LU 2);
- MNS (Antígenos MNS 1, MNS 2, MNS 3, MNS 4);

* Trabalho realizado no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE).

** Médica aluna do XVI Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia

- P (Antígeno P 1).

Nosso objetivo foi pesquisar a frequência fenotípica dos principais抗ígenos eritrocitários dos sistemas de grupos sanguíneos citados acima, na população do estado do Ceará, compará-las de acordo com o sexo e com os dados disponíveis na literatura nacional, além de criar um banco de dados para o HEMOCE.

Os doadores inclusos neste trabalho são residentes no estado do Ceará, dos grupos sanguíneos A ou O, Rh positivo ou negativo, de ambos os sexos, com faixa etária de 18 – 60 anos e que já fizeram, obrigatoriamente, mais de uma doação de sangue no HEMOCE.

Foram fenotipados 10 doadores por dia (em média 15% do número total de doadores por dia), no período de 02 de agosto de 1999 a 15 de janeiro de 2002, utilizando o método de gel-centrifugação (Diamed-ID Micro Typing System).

A análise percentual de cada fenótipo pesquisado evidenciou que, estatisticamente, há diferença significativa quanto à freqüência fenotípica dos sistemas de grupos sanguíneos aqui estudados, quando comparada às das demais regiões brasileiras. As diferenças encontradas podem ser explicadas pela intensa miscigenação do povo brasileiro, não sendo possível, portanto, diferenciar quanto à raça.

I. INTRODUÇÃO

Desde a descoberta do primeiro grupo sanguíneo por Karl Landsteiner em 1901, os抗ígenos eritrocitários têm sido objeto de estudo de muitos pesquisadores do mundo inteiro. Esse interesse nos trouxe muitos benefícios já que a descoberta de muitos抗ígenos, atualmente são mais de 250抗ígenos reconhecidos, diminuiu a incidência de acidentes transfusionais.

Atualmente, a classificação ABO e Rh (pesquisa do抗ígeno D) dos doadores de produtos hemoterápicos faz parte da rotina de todos os hemocentros do país. No entanto, a pesquisa de outros抗ígenos eritrocitários, na rotina dos bancos de sangue, se faz necessário para se evitar as aloimunizações pós-transfusionais.

Embora existam 23 sistemas de grupos sanguíneos reconhecidos pela *International Society for Blood Transfusion*⁽³¹⁾, os acidentes transfusionais mais graves são evitados pela simples classificação ABO e Rh dos doadores e receptores. Contudo, no Brasil, as prevalências抗ígenicas dos sistemas de grupos sanguíneos de importância clínica (Rh, Duffy, Kell, Kidd, Lewis, Lutheran, MNS e P) são diferentes, por isso, é o nosso desejo que, futuramente, a fenotipagem eritrocitária para esses sistemas façam parte da rotina de todos os hemocentros brasileiros.

Este trabalho contribuiu para o estudo de prevalência desses抗ígenos, além de montar um banco de dados para o HEMOCE.

II. REVISÃO DE LITERATURA

Os grupos sanguíneos são抗ígenos presentes na superfície das hemácias, que, do ponto de vista químico, podem ser proteínas de membrana dos eritrócitos; ou carboidratos como parte de glicoproteínas ou glicolípides. No primeiro caso, as proteínas constituem o produto primário dos genes, enquanto que nos casos onde os抗ígenos são carboidratos, o produto gênico é a enzima glicosil-transferase, cuja ação vai determinar a estrutura molecular do抗ígeno (4, 12, 16, 29, 31).

Os抗ígenos eritrocitários pertencem à categoria dos aloantígenos, que são os抗ígenos que diferenciam os indivíduos de uma mesma espécie. São sintetizados, em sua maioria, pelas próprias hemácias, sendo alguns absorvidos do plasma (como os抗ígenos de Lewis), podendo se restringir às hemácias ou se apresentar em outros tipos celulares (como exemplo os抗ígenos ABO) (27, 31).

A especificidade de um抗ígeno é a sua propriedade de ser reconhecido pelo anticorpo produzido contra ele, assim o抗ígeno B, por exemplo, só é reconhecido pelo anticorpo produzido contra ele (4, 29, 31).

Atualmente, mais de 250抗ígenos são conhecidos, classificados em sistemas de grupos sanguíneos, determinados por um único gene ou por um complexo de dois ou mais genes homólogos intimamente ligados. A *International Society for Blood Transfusion* reconhece a existência de 23 sistemas de grupos sanguíneos. O número de抗ígenos conhecidos varia de 1 a 47. Os genes ou o mRNA de 20 desses sistemas já foram clonados e seqüenciados (Zago, 1998). (Tabela 1).

Os sistemas ABO e Rh se destacam devido à sua imunogenicidade, produzindo as reações transfusionais mais severas, com elevada morbimortalidade. Os outros sistemas determinam acidentes transfusionais menos graves.

Tabela 1- Grupos sanguíneos reconhecidos pela International Society for Blood Transfusion, com os respectivos símbolos, número de抗ígenos em cada sistema e o produto gênico.

Nº	Nome	Símbolo	Antígenos	Produto gênico
001	ABO	ABO	4	Glicosil-transferase
002	MNS	MNS	38	Glicoforinas A, B
003	P	P1	1	Glicosil-transferase
004	Rh	RH	47	Proteínas CE e D
005	Lutheran	LU	18	Superfamília Ig
006	Kell	KEL	21	Glicoproteína Kell
007	Lewis	LE	3	Fucosil-transferase
008	Duffy	FY	6	Glicoproteína Fy (receptor de quimocina)
009	Kidd	JK	3	Transportador de uréia
010	Diego	DI	4	Proteína banda-3 (canal de ânion)
011	Yt	YT	2	Acetilcolinesterase eritrocitária
012	Xg	XG	1	Glicoproteína
013	Sciana	SC	3	Glicoproteína
014	Dombrock	DO	5	Ligado ao GPI
015	Colton	CO	3	Aquaporina 1
016	LW	LW	3	Superfamília Ig
017	Chido-Rogers	CH/RG	9	C4A, C4B (complemento)
018	Hh	H	1	Flucosiltransferase
019	Kx	XK	1	Glicoproteína
020	Gerbich	GE	7	Glicoforinas C, D
021	Cromer	CROM	10	DAF (CD55)
022	Knops	KN	5	CR1 (CD35)
023	Indian	IN	2	CD44 (H-CAM)

Fonte: ZAGO, M. A.: Bases moleculares dos grupos sanguíneos, Série de monografias- SBHH, 1998.

1. SISTEMAS DE GRUPOS SANGUÍNEOS ABO e Hh

1.1- Aspectos históricos

O sistema ABO foi o primeiro grupo sanguíneo a ser descoberto por Karl Landsteiner no ano de 1901. Ao colher seu próprio sangue e de cinco colaboradores, separou as hemácias do soro de cada amostra colhida. Ele verificou que ao misturar as hemácias dos indivíduos do grupo A com o soro dos indivíduos do grupo B, havia aglutinação. Assim como, as hemácias do grupo B aglutinavam o soro dos indivíduos do grupo A, e que o soro dos indivíduos do grupo O aglutinava as células dos dois grupos ⁽⁰⁹⁾.

1.2- Bases moleculares

O sistema ABO é o principal sistema de aloantígenos humanos, que, juntamente com o sistema Hh envolve os 3 antígenos mais importantes: A, B e H. Esses antígenos estão presentes em diversos tecidos, devendo ser considerados antígenos de histocompatibilidade. Esses antígenos são glicoproteínas, cuja estrutura final depende das enzimas (glicosil-transferases) codificadas por 2 genes:

- Um gene H no cromossomo 17, que sintetiza a fucosil-transferase 1 (FUT 1 ou glicosil-transferase H tipo 1). Esta por sua vez, transfere um resíduo de fucose para a N-acetil-glicosamina-galactose, formando a substância H;
 - Um gene ABO no braço longo do cromossomo 9, na banda 9q34.1-34.2, que sintetiza a glicosil-transferase que adiciona um resíduo adicional de açúcar à substância H, que pode ser N-acetil-galactosamina ou galactose, originando respectivamente os grupos sanguíneos A e B^(4, 16, 18, 27, 31). (Figura 1).

Figura 1:
Estrutura dos
antígenos A, B e H.

Antígeno H
R-NAcGlicosamina-Galactose-L-Frutose(α1-2)

Antígeno A
R-NAcGlicosamina-Galactose-L-Frutose(α1-2)
└(α1-3) NAcGalactosamina

Antígeno B
R-NAcGlicosamina-Galactose-L-Frutose(α1-2)
└(α1-3) NAcGalactose

1.2.1- Gene H

Nos indivíduos tipo O, a substância H não é modificada. Assim o antígeno encontrado em suas células é o antígeno H. O genótipo de um indivíduo em que os dois genes funcionam é HH. Quando um dos genes não funciona, é Hh. Raramente os dois genes podem estar ausentes ou não funcionais, sendo o genótipo hh. Neste indivíduo não há a produção de nenhum antígeno do sistema ABO, dando origem aos genótipos Bombay (O_h) e para-Bombay⁽³¹⁾.

Os portadores deste genótipo apresentam características peculiares:

- Suas hemácias não reagem com anti-soros anti-A, anti-B ou anti-H;
- A saliva não contém抗ígenos A, B ou H;
- O soro contém anticorpos anti-A, anti-B e anti-H.

O fenótipo Bombay e suas variações podem ser causados por um grande número de defeitos moleculares que afetam o gene H (fucosil-transferase 1, FUT 1) e suprimem ou reduzem drasticamente a sua expressão. As mutações descritas incluem substituições que criam código prematuro de término ou outras que levam à troca de aminoácidos resultando na produção de enzima inativa ou de ínfima atividade residual. A forma clássica do fenótipo Bombay em indianos, parece ser resultante de duas lesões moleculares, uma no gene H e outra no gene Se (causando o fenótipo não secretor): a lesão do gene H é uma substituição T725G na região codificante, que inativa a enzima, associada a uma deleção do gene Se^(04, 16, 18, 27, 31).

1.2.2- Gene ABO

Localiza-se no cromossomo 9 e determina síntese de uma glicosil-transferase que adiciona um resíduo de açúcar à substância H, transformando-a em antígeno A ou B.

1.2.3- Genes A e B

São genes muito semelhantes, diferindo apenas 7 bases nos exons 6 e 7. Essa diferença leva a formação das glicosil-transferases A e B, que diferem quanto à especificidade, pois a glicosil-transferase A adiciona um resíduo de n-acetil-glicosamina

à substância H, transformando-a em antígeno A. A glicosil-transferase B adiciona um resíduo de galactose, transformando-a em antígeno B.

O grupo sanguíneo O surge pela falta dessas enzimas, porque o gene ABO está silencioso. Assim a substância H persiste na superfície celular.

Os grupos A e B exibem numerosas variantes (A^2 , A^3 , ...), caracterizadas pela expressão antigênica mais fraca (04, 16, 18, 27, 31).

1.2.4- Gene secretor

Os抗ígenos ABH também podem ser encontrados em secreções e fluidos, como a saliva e o plasma. A capacidade de secretar抗ígenos é determinada geneticamente, sendo o gene (Se) secretor e dominante em relação ao não secretor (se). Cerca de 80% dos caucasóides são secretores (Se/Se) e 20% são não-secretores (se/se) (27).

1.2.5- Anticorpos

Os anticorpos do sistema de grupos sanguíneos ABO estão presentes no soro dos indivíduos, dirigidos contra os抗ígenos A e/ou B e ausentes nas hemácias. São conhecidos como anticorpos naturais, por surgirem passivamente através do estímulo da flora bacteriana intestinal, onde as bactérias saprófitas possuem substâncias de superfície de membrana semelhantes aos抗ígenos ABO. Podem ser tanto de classe IgM quanto IgG.

Podem também aparecer através de estímulos com substâncias grupo-específicas A ou B de origem animal ou bacteriana (hetero-imunização), ou através da gravidez assim como por transfusão sanguínea incompatível (aloimunização). São em sua maioria da classe IgG.

Os anticorpos naturais reagem melhor em baixas temperaturas, especialmente a 4^0 C, enquanto os imunes reagem igualmente de 4 a 37^0 C. Todos, exceto os de classe IgA, são capazes de ativar o Complemento, provocando hemólise intravascular.

2. SISTEMA DE GRUPOS SANGUÍNEOS Rh

2.1- Aspectos históricos

O sistema Rh tem essa denominação em virtude da descoberta dos anticorpos em coelho em resposta à injeção de eritrócitos de macaco (*Macacus rhesus*), realizada por Landsteiner e Wiener em 1940. Eles acreditavam que esses anticorpos tinham a mesma especificidade dos anticorpos humanos descritos por Levine e Stetson em 1939, produzidos durante uma reação transfusional com sangue ABO compatível.

Anos mais tarde concluíram que os anticorpos dos animais e os humanos não reagiam com o mesmo antígeno (não tinham a mesma especificidade) (01, 04, 22, 25).

2.2- Bases moleculares

O grupo sanguíneo Rh consiste de pelo menos 45抗ígenos independentes e é considerado o sistema de grupo sanguíneo mais polimórfico. O alto poder imunogênico dos seus抗ígenos atribui ao sistema grande importância clínica, pois estão envolvidos na fisiopatogenia das reações hemolíticas transfusionais, na doença hemolítica transfusional do recém-nascido e na anemia hemolítica auto-imune.

O locus do gene Rh está localizado no braço curto do cromossomo 1, na banda 1q34.3-36.1, e contém 2 genes homólogos, denominados CE e D. O gene D é transcrito na proteína D, enquanto o gene CE é transcrito na proteína CE. Além disso, existem algumas formas menores da proteína CE formadas por *splicings* alternativos, especialmente aquelas onde faltam as regiões correspondentes aos exons 4-5-6 e 4-5-8. As proteínas D e CE são muito similares (proteínas Rh 30), e interagem com outras proteínas de membrana como a glicoforina B e os抗ígenos dos sistemas Lewis e Duffy (18, 27, 31).

O principal polimorfismo deste sistema se deve à presença ou ausência da proteína D, apresentando os genótipos DD, Dd e dd e os fenótipos Rh positivo e Rh negativo.

O polimorfismo C/c é determinado por variação de 4 aminoácidos da proteína CE nas posições 16, 60, 68 e 103, que podem ser, respectivamente, cisteína, isoleucina, serina e serina (抗ígeno C) ou triptófano, leucina, asparagina e prolina (抗ígeno c). O

polimorfismo E/e se dá pela variação de um aminoácido da proteína CE, na posição 226, respectivamente prolina ou alanina.

2.2.1- Antígeno D fraco ou D"

O fenótipo D fraco resulta de um polimorfismo quantitativo e não qualitativo da expressão do D. Assim um indivíduo portador do fenótipo D fraco não produz aloanti-D. Análises de DNA de amostras do antígeno mostraram uma seqüência normal do gene RHD, mas uma redução severa da expressão do seu RNAm, sugerindo um defeito a nível de transcrição ou de processamento do pré-RNAm. Contudo, em outro estudo, essa hipótese não se confirmou ⁽⁰¹⁾.

Mais recentemente, evidenciou-se mutações em indivíduos com antígeno D fraco, resultando em substituições, únicas ou múltiplas, de aminoácidos localizados em segmentos citoplasmáticos ou transmembrana e presentes em 4 regiões da proteína D.

2.2.2- Antígenos D parciais

Surgem como fruto de defeitos moleculares em que falta parte(s) do gene D, substituída(s) pela porção equivalente do gene CE. Conseqüentemente há a produção de anticorpos contra a(s) região(s) ausente(s) da proteína D, ou seja, teremos um indivíduo Rh positivo que produz um anti-D capaz de reagir contra hemácias de outro indivíduo Rh positivo.

A nomenclatura deste grupo é muito confusa, e são referidos freqüentemente com D fracos, D variantes ou D mosaicos ⁽⁰¹⁾.

2.2.3- Rh null

Esta denominação se dá a raros indivíduos que não tem nenhum antígeno do sistema Rh. Estes indivíduos apresentam discretas alterações clínico-laboratoriais: síndrome hemolítica leve, estomatocitose das hemácias, aumento da fragilidade osmótica e alterações do transporte de íons transmembrana.

Recentes estudos moleculares evidenciam que o Rh null surge como fruto de 2 defeitos genéticos independentes:

- Tipo amorfó, devido à homozigose para um gene silencioso no locus Rh (mais raro);
- Tipo regulador, devido à homozigose para mutação em um gene autossômico denominado supressor (X^0r). A mutação em um gene do cromossomo 6 denominado RH50 parece ser a mutação mais freqüente. Este gene codifica a síntese da proteína RH50 que, juntamente com o CD47, a glicoforina B e glicoproteínas dos sistemas Lewis e Duffy, interagem com as proteínas de membrana RH30.

As mutações do gene RH50 descritas até o momento são:

- Deleção de uma ou de duas bases, com *frameshift* e término prematuro da síntese;
- Mutação de ponto com substituição de resíduo em domínio hidrofóbico da proteína;
- Mutação associada à supressão da expressão do alelo ^(01, 27).

2.2.4- Anticorpos

Praticamente todos os anticorpos do sistema Rh resultam de uma aloimunização por transfusão sanguínea ou por gravidez, pertencendo quase sempre à classe IgG (IgG1 ou IgG3).

A aloimunização pós-transfusional é a causa mais freqüente de produção de anticorpos contra抗ígenos Rh. Estima-se que em 80% dos casos de transfusão incompatível há a produção do anticorpo anti-D, e em menor freqüência contra os outros抗ígenos do sistema Rh (C, c, E, e), em politransfundidos.

A maior parte dos casos de Doença Hemolítica do Recém-nascido se dá pelo anti-D. A profilaxia com imunoglobulina anti-D não previne aloimunização materna contra os outros抗ígenos do sistema.

3. SISTEMA DE GRUPOS SANGUÍNEOS LEWIS

Os antígenos do sistema Lewis (LE 1 e LE 2) não são produzidos no eritrócito, mas em células epiteliais, particularmente as intestinais, e circulam ligados a lipoproteínas e são transferidos passivamente para as hemácias.

O gene LE codifica a 4- α -L-fucosil-transferase que adiciona uma L-fucose ao carbono 4 da substância precursora 1(Gal β (1-3) GlcNAc transformando-a em antígeno Le^a. Nos indivíduos secretores (portadores do gene Se), o gene Se produz a enzima 2- α -L-fucosil-transferase, que liga outra L-fucose ao carbono 2 da β -galactose, produzindo o antígeno H, utilizando toda a substância precursora; desta forma, não resta substância precursora para a produção do antígeno LE 1, mas ao mesmo tempo, o gene LE atua sobre a substância H, transformando-a em antígeno LE 2, caracterizando o fenótipo LE: -1, 2.

Nos indivíduos LE negativos não há a síntese dos antígenos LE 1 ou LE 2, definindo o fenótipo LE: -1, -2.

Nos indivíduos tipo Bombay (hh) as hemácias poderão ter antígeno LE 1 (resultante da ação do gene sobre a substância precursora), mas nunca terão o antígeno LE 2 (resultante da transformação da substância H); assim, na dependência do genótipo Lewis, as hemácias O_h serão LE: -1, -2 ou LE: 1, -2, mas nunca LE: -1, 2.

3.1- Anticorpos

Os anticorpos Lewis são de ocorrência natural e, em geral, produzidos por indivíduos com fenótipo LE: -1,-2; são do tipo IgM e não atravessam a barreira placentária, dessa forma não estão implicados na fisiopatogenia da doença hemolítica perinatal e nem em reações hemolíticas transfusionais graves. Contudo, quando ativos à 37⁰C, podem ativar o complemento, provocando hemólises severas (04, 12, 27, 31).

Pelo fato dos anticorpos anti-Le1 e anti-Le2 serem citotóxicos contra linfócitos, o sistema Lewis é considerado um sistema de histocompatibilidade.

4. SISTEMA DE GRUPOS SANGUÍNEOS MNS

4.1- Aspectos históricos

Os antígenos M (MNS 1) e N (MNS 2) foram descobertos em 1927 por Landsteiner e Levine, a partir da imunização de coelhos com eritrócitos humanos. Em 1947 foi descrito o antígeno S (MNS 3) e em 1951 o antígeno s (MNS 4).

Em 1953, foi relatada por Wiener a existência de um antígeno de alta freqüência, denominado U (MNS 5), comum em 100% dos brancos e 98,5% dos negros. Atualmente 38 antígenos deste sistema já foram descritos, tornado-o grande e complexo⁽²⁷⁾.

4.2. Bases moleculares

O complexo gênico do sistema MNS está localizado no braço longo do cromossoma 4, banda 4q28-q31.

Os antígenos desse sistema estão associados com as sialoglicoproteínas da membrana eritrocitária, denominadas glicoforina A (GPA) e glicoforina B (GPB). O antígeno MN está associado à glicoforina A que, juntamente com a proteína de banda 3 (proteína de transporte de ânions), forma o mais importante grupo de glicoproteínas intrínsecas da membrana eritrocitária. Cada eritrócito contém 300.00 a 1.200.00 moléculas de GPA. A glicoforina B é semelhante à GPA, embora tenha apenas 76 aminoácidos, e seja menos abundante do que a GPA. O antígeno Ss está localizado na GPB^(21, 27, 31).

As glicoforinas relacionadas com o sistema MNSsU são codificadas por três genes homólogos GPA (glicoforina A), GPB (glicoforina B) e GPE, localizados no cromossomo 4, banda 4q31, na ordem 5'-GPA-GPB-GPE-3'. O produto do gene GPE ainda não foi identificado^(21, 27, 31).

Os antígenos deste sistema são bem desenvolvidos ao nascimento, tendo sido detectados nos eritrócitos fetais em idade gestacional precoce, contribuindo para casos de doença hemolítica perinatal. Mostram efeito de dose, ou seja, hemácias homozigotas reagem muito mais fortemente com o anticorpo correspondente.

O sistema MNS é um dos mais polimórficos, exibindo 38抗ígenos reconhecidos, destes os mais importantes são os抗ígenos MNS 1, MNS 2, MNS 3, MNS 4. A maior parte destes抗ígenos são resultantes de mutações puntiformes, deleções parciais ou recombinações não homólogas dos genes GPA ou GPB, gerando genes híbridos, compostos por parte da GPA e parte da GPB⁽³¹⁾.

4.2.1- Anticorpos

O anticorpo anti-MNS 1 é um anticorpo de ocorrência natural, irregular que reage melhor à 4°C, podendo também reagir fracamente à 37°C. Normalmente não fixa complemento.

Já foram descritos acidentes transfusionais e casos graves de doença hemolítica perinatal associados ao anti-MNS 1, assim como auto-anticorpos anti-MNS 1 em anemias hemolíticas.

O anti-MNS 2 apresenta características sorológicas semelhantes ao anti-MNS 2, sendo porém mais raro. Há a descrição de casos na literatura de acidentes transfusionais, doença hemolítica perinatal e anemias hemolíticas auto-imunes devido ao anti-MNS 2.

Os anti-MNS 3, anti-MNS 4 e anti-MNS 5 são frutos de aloimunizações, sendo o anti-MNS 5 extremamente raro e capaz de causar reação hemolítica transfusional grave.

5. SISTEMA DE GRUPOS SANGUÍNEOS KELL

5.1. Aspectos históricos

Em 1946 um抗ígeno foi descrito através de uma reação抗ígeno-anticorpo no soro da Sra. Kellacher, com os eritrócitos da sua filha neonata, sua filha mais velha, seu marido e 7 a 9% da população ao acaso. Este foi denominado抗ígeno K (Kell).

Em 1949, Levine e cols. descreveram seu parceiro antitético de alta freqüência k (cellano).

5.2. Bases moleculares

O sistema Kell é um dos maiores sistemas de抗igenos eritrocitários já descobertos, com 25抗igenos descritos até o momento, sendo KEL 1 (Kell), KEL 2 (cellano), KEL 3, KEL 4, KEL 5, KEL 6, KEL 7 os mais importantes. Resulta de polimorfismos de uma longa glicoproteína (proteína Kell), bastante dobrada sobre si mesma, com numerosas pontes dissulfeto na sua porção extracelular. Na porção N-terminal há um pequeno domínio intracitoplasmático e um domínio transmembrana.

A proteína KEL se localiza, exclusivamente, na superfície da membrana eritrocitária e é codificada pelo gene KEL, localizado no braço longo do cromossomo 7.

Todos os polimorfismos da proteína KEL se dão por trocas de aminoácidos provocadas por mutações de bases nas regiões codificantes do gene. Em alguns casos, a substituição de aminoácidos tem consequências adicionais sobre a molécula, alterando sua glicosilação ou o padrão de dobras; além disto, devido à modificação conformacional induzida na proteína, todos os抗igenos produzidos por este alelo ficam mais fracos, o que pode ser observado quando o alelo oposto é K₀. Sua função é desconhecida, embora apresente homologia com algumas endopeptidases. A proteína KEL não é essencial, pois indivíduos KEL-nulo são perfeitamente normais ^(27,31).

O抗igeno KEL 1 está presente em 9% da população branca, e é o抗igeno eritrocitário com maior capacidade para produzir anticorpos. Sua expressão começa em torno da décima semana de vida intrauterina. Como ao nascimento já está bem desenvolvido, o抗igeno KEL 1 é capaz de provocar isoimunização materna com doença hemolítica perinatal consequente.

5.2.1. Anticorpos

A maioria dos anticorpos do sistema Kell são produzidos em resposta a um estímulo transfusional, pertencem a classe IgG, são ativos à 37°C, e 20% ativam complemento, no entanto a hemólise intravascular é infrequente. São, portanto, clinicamente significantes e capazes de causar reações hemolíticas agudas e tardias e doença hemolítica perinatal (DHPN).

Embora apenas 2% dos casos de DHPN sejam causados por anticorpos que não pertencem aos sistemas ABO e Rh, os casos por anti-KEL 1 têm aumentado em virtude do uso rotineiro de profilaxia anti-D, podendo provocar hemólise grave no feto.

6. SISTEMA DE GRUPOS SANGUÍNEOS DUFFY

6.1- Aspectos históricos

Em 1950, Cutbesh, Mollison e Parkin descreveram um anticorpo desconhecido num paciente hemofílico politransfundido que se chamava Duffy. Em homenagem ao paciente, o anticorpo passou a se chamar anti-Fy^a (anti-FY 1) e seu antígeno correspondente de Fy^a (FY 1). Um ano mais tarde, Irkin, Mourant e cols. Descreveram o anticorpo anti-Fy^b (anti-FY 2). Recentemente, surgiram outros anticorpos do sistema Duffy⁽²⁷⁾.

6.2- Bases moleculares

O locus Duffy, mapeado no cromossomo 1, banda 1q22-23, é composto por dois genes alelos, comuns em caucasianos, FY 1 e FY 2, que codificam os antígenos FY 1 e FY 2, respectivamente.

Nos caucasianos, três fenótipos são possíveis com os antíseros anti-FY 1 e anti-FY 2: FY: 1, -2; FY: 1, 2; FY: -1, 2. O alelo Duffy que não é FY 1 nem FY 2, origina o fenótipo FY: -1, -2, raro em caucasianos e freqüente em negros. Antí-soros anti-FY 3, anti-FY 4, anti-FY 5, anti-FY 6, definem outros fenótipos: FY 3, FY 4, FY 5, FY 6, respectivamente.

Os antígenos FY 1 e FY 2 são alelos codominantes herdados de acordo com as leis de Mendel e encontram-se bem desenvolvidos ao nascimento, podendo ser detectados nas hemácias dos embriões entre a sexta ou sétima semanas de vida intrauterina. Os antígenos FY 1 e FY 2 já foram encontrados em outros tecidos ou órgãos, além das hemácias. Não estão presentes em linfócitos, granulócitos, monócitos ou plaquetas.

Os抗ígenos Duffy parecem ser proteínas multiméricas da membrana eritrocitárias compostas de diferentes subunidades, sendo a subunidade GP-FY a principal. Esta proteína é composta por 338 aminoácidos organizados em 7 domínios transmembranares, sendo um domínio extracelular N-terminal, 9 α hélices e um domínio intracelular C-terminal. Manose, galactose, fucose, ácido siálico e N-acetil-glicosamina são os carboidratos que a compõe.

Estudos de PCR mostraram que:

- Em caucasianos, FY: 1, -2 e FY: -1, 2 são FY homozigotos;
- A maioria dos negros FY: -1, -2 tem FY 2;
- A maioria dos negros FY: 1, -2 são FY 1 / FY 2.

O gene silencioso FY 2 é muito comum na população negra, mas um gene silencioso FY 1 nunca foi encontrado. Em 1993, Chalhuri e cols. Demonstraram que indivíduos FY: -1, -2 tem um gene FY sem alterações do ponto de vista genético, mas que não é expresso na medula óssea.

Além de estarem envolvidos em reações hemolíticas transfusionais, e na doença hemolítica neonatal, os抗ígenos FY também atua como receptor para parasitas da malária. Hemácias de indivíduos FY: -1, -2 são resistentes à invasão pelo *P. vivax* e pelo *P. knowlesi*. No entanto, os parasitas invadem as hemácias FY 1 e /ou FY 2 positivas ⁽²⁷⁾.

6.2.1- Anticorpos

Os anticorpos anti-FY 1 são, geralmente, de classe IgG, estimulados por gestação e/ou transfusão e fixam o complemento. São raros em negros, sugerindo serem mais imunogênicos na raça branca.

Assim como o anti-FY 1, o anti-FY 2 também é de classe IgG estimulado por gestação e transfusão, alguns fixam complemento. É relativamente raro (20 vezes menos freqüente que o anti-FY 1) e também está implicado em reações hemolíticas transfusionais e DHPN.

O anti-FY 3 é geralmente produzido em brancos com o fenótipo FY: -1, -2, após gestação e/ou transfusão, sendo muito raro em negros. Reage fortemente com células FY: 1, -2, FY: 1, 2 e FY: -1, 2.

O anti-FY 4 é raríssimo e reage preferencialmente com hemácias FY:-1, -2.

Todos os anticorpos anti-FY 5 foram encontrados em indivíduos negros politransfundidos e com o fenótipo FY:-1, -2. O anti-FY 5 tem sido implicado em reações hemolíticas tardias ⁽²⁷⁾.

7. SISTEMA DE GRUPOS SANGUÍNEOS KIDD

7.1. Aspectos históricos

O sistema Kidd foi descoberto em 1951, pela presença de um anticorpo no soro de uma puérpera (Sra. Kidd), cujo filho (John Kidd) apresentava-se com doença hemolítica perinatal. Em homenagem aos pacientes, o anticorpo foi chamado de anti-Jk^a (anti-JK 1)e o antígeno de Jk^a (JK 1). Em 1953, o alelo Jk^b (JK 2) foi descrito.

7.2. Bases moleculares

Os antígenos do sistema Kidd são produzidos por genes alelos localizados no cromossomo 18, banda 18q11-q12. Os genes JK 1 e JK 2 são responsáveis pela produção dos antígenos JK 1/JK 3 e JK 2/JK 3, respectivamente. Um terceiro alelo chamado JK foi postulado como gene silencioso responsável pelo fenótipo JK: -1, -2 do tipo recessivo, ou seja, determinado pela presença em dose dupla do gene Jk (Jk Jk). O indivíduo portador é capaz de produzir anticorpos anti-JK 3 e anti-JK 1 e /ou anti-JK 2.

Os antígenos JK 1 e JK 2, determinados através dos anticorpos correspondentes, definem os três principais fenótipos: JK: 1, -2; JK: 1, 2; JK: -1, 2. O alelo JK define o fenótipo JK: -1, -2, mais raro, aparecendo com maior frequencia em populações do extremo oriente.

7.2.1- Anticorpos

Os anticorpos do sistema Kidd podem ser de classe IgG (IgG3 ou IgG1 + IgG3) ou misturas de IgG e IgM, sendo raramente IgM puro. Ambos são capazes de fixar complemento. O anti-JK 3 é um anticorpo raro, geralmente do tipo IgG, apresentando comportamento semelhante aos outros anticorpos Kidd. Ocorre nos indivíduos de fenótipo JK: -1, -2 do tipo recessivo, normalmente isolado, mas podendo, também, estar associado com os outros anticorpos do sistema. O anti-JK 3 está implicado em reações transfusionais imediatas e tardias.

De uma maneira geral as reações antígeno-anticorpo do sistema Kidd são fracas, além do efeito de dose observado na reação de hemácias homozigóticas contra os anticorpos anti-JK 1 e anti-JK 2. Esses anticorpos estão envolvidos freqüentemente em reações hemolíticas pós-transfusionais graves em politransfundidos e, mais raramente, em doenças hemolíticas perinatais, sendo o JK 2 mais raro que o JK 1. Diversos casos de auto anti-JK 1 foram descritos em anemias hemolíticas auto-imunes, sendo alguns casos relacionados ao uso de metildopa⁽²⁷⁾.

8. SISTEMA DE GRUPOS SANGUÍNEOS P

8.1. Aspectos históricos

O sistema P foi descoberto por Landsteiner e Levine em 1927 quando, através da injeção de eritrócitos humanos em coelhos, isolaram um anticorpo, na época classificado como anti-P, que dividiu as hemácias em dois grupos: P+ (P: 1) e P- (P: -1).

Em 1951, Levine e cols. Descreveram outro anticorpo, anti-Tj^a, atualmente denominados anti-PP₁P^k, que reagia contra um antígeno de alta freqüência encontrado em indivíduos P+ e P-. Esses indivíduos foram chamados de P nulo.

A partir destas descobertas, os antígenos do sistema P foram reescritos: o fenótipo P+ tornou-se P₁ (P: 1); o fenótipo P- tornou-se P₂ e o fenótipo P nulo, tornou-se p⁽²⁷⁾.

8.1. Bases moleculares

Embora as bases bioquímicas estejam estabelecidas, os modelos genéticos atuais não explicam todo o mecanismo de síntese do sistema P. Duas teorias são propostas:

- A primeira propõe 3 unidades genéticas: P^k , P e P_1 ; sendo P^k e P chamadas P_2 .
- A segunda propõe duas unidades genéticas: P_1^k e P. Nesta teoria, um gene amorfó P_0 é admitido como alelo para explicar, em alguns fenótipos, a não conversão de P^k em P.

Os抗ígenos do sistema P são glicolipídeos de membrana eritrocitária, construídos de forma idêntica aos dos Sistemas ABO, Hh e Lewis, a partir da mesma estrutura básica precursora, a lactosilceramina.

A nova nomenclatura proposta pela ISBT (Sociedade Internacional de Transfusão Sanguínea) estabelece apenas o antígeno P 1 do sistema P. Os outros抗ígenos são considerados obsoletos.

8.2.1- Anticorpos

O anticorpo anti-P 1 é de ocorrência natural e um dos mais freqüentes. É de classe IgM, baixo título, e sem importância clínica para a prática transfusional. Em alguns casos pode estar implicado em reações transfusionais, doenças hemolíticas auto-imunes e anemias hemolíticas do recém-nascido. Infecções parasitárias foram associadas com anti-P 1.

9. SISTEMA DE GRUPOS SANGUÍNEOS LUTHERAN

9.1. Aspectos históricos

O primeiro抗ígeno do sistema Lutheran foi descrito em 1945, através da descoberta de um novo anticorpo de especificidade diferente. Um ano após, foi descrito com mais detalhes durante a investigação do抗ígeno no sangue do doador, de

sobrenome Lutheran, cujo anticorpo reagiu. Posteriormente os símbolos a e b foram usados para designar os produtos dos genes alelos: Lu^a (LU 1) e Lu^b (LU 2).

Vários estudos populacionais, em diversos países, demonstraram que, aproximadamente, uma pessoa em 1000 era Lu^b (LU 2) negativo, e 8% era Lu^a (LU 1) positivo ⁽⁰³⁾.

9.2. Bases moleculares

Os dois抗ígenos do sistema Lutheran (LU 1 e LU 2) são codificados por genes alelos co-dominantes, presentes no cromossomo 19, ligados ao gene Secretor, H, Lewis e LW, o primeiro exemplo de *linkage* autossômico em humanos.

Atualmente se sabe que o sistema Lutheran é complexo e polimórfico, exibindo 18抗ígenos, alguns deles não são controlados pelo *loci* LU, sendo, portanto, denominados抗ígenos para-Lutheran. São eles: LU 4, LU 5, LU 7, LU 11, LU 12, LU 13, LU 16, LU 17, LU 20.

Os抗ígenos LU 1 e LU 2, embora estejam presentes em hemácias fetais, não estão bem desenvolvidos ao nascimento, e mostram um efeito de dose com nítidas diferenças em indivíduos homozigotos e heterozigotos dentro da mesma família.

9.2.1- Fenótipos Lutheran Null – LU: -1, -2.

O sistema Lutheran se destaca pela existência de indivíduos que não expressam os抗ígenos principais, LU 1 e LU 2, definindo o fenótipo Lutheran null. A ausência desses抗ígenos pode ser explicada por três mecanismos:

- Presença de um gene supressor autossômico dominante *In(LU)*, que suprime os genes LU 1 e LU 2. Sua ação pode se estender a outros sistemas, como o sistema P;
- Presença de um alelo silencioso no *loci* LU, definindo o tipo recessivo homozigoto LuLu;
- Presença de um gene supressor Lutheran ligado ao cromossomo X (ligado ao sexo), denominado XS2.

O fenótipo LU: -1, -2 é muito raro, e quando presente, está relacionado em sua maioria à presença do gene supressor autossômico dominante *In(LU)*⁽⁰³⁾.

9.2.1- Anticorpos

Clinicamente, os anticorpos anti-LU 1 e anti-LU 2 podem estar, raramente, envolvidos em reações hemolíticas transfusionais sem muita gravidade, assim como na doença hemolítica perinatal, na forma moderada.

O anticorpo anti-LU 1 é raramente encontrado na população em geral. Quando presente, é de ocorrência natural, podendo pertencer as classes IgA, IgM, IgG, e podem fixar complemento. O anticorpo anti-LU 2 também é raro, já que a maioria dos indivíduos são LU 2 positivo, podendo pertencer às classes IgA, IgM, IgG. Alguns fixam o complemento.

III. MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados 1483 doadores de sangue, dos dois sexos, com idade entre 18 e 60 anos, que se apresentaram no HEMOCE para doação espontânea, avaliados pela equipe médica do hemocentro, estando aptos para a doação, no período de 02 de agosto de 1999 a 15 de janeiro de 2002.

Os doadores foram selecionados de acordo com os seguintes critérios:

- Ser dos grupos sanguíneos A ou O;
- Rh positivo ou negativo;
- Que já fizeram mais de uma doação de sangue no HEMOCE;
- Residir no estado do Ceará.

A imunofenotipagem foi realizada no laboratório de Imunohematologia do HEMOCE, imediatamente após a obtenção da amostra coletada diretamente da bolsa de doação com sorologias confirmadas como negativas.

Foram analisados os抗ígenos dos sistemas:

- Rh (Antígenos: RH 1, RH 2, RH 3, RH 4, RH 5, RH 8);
- Kell (Antígeno: KEL 1);
- Duffy (Antígenos: FY 1 e FY 2);
- Kidd (Antígenos: JK 1 e JK 2);
- MNS (Antígenos: MNS 1, MNS 2, MNS 3, MNS 4);
- P (Antígeno: P 1);
- Lewis (Antígenos: LE 1 e LE 2);
- Lutheran (Antígenos: LU 1 e LU 2).

Utilizamos a técnica em Gel Centrifugação (DiaMed-ID Micro Typing System), seguindo a técnica rigorosamente conforme as orientações do fabricante.

Procedimentos técnicos utilizados para a fenotipagem dos抗ígenos dos sistemas Rh, Kidd, P, Kell, Lewis e Lutheran:

- Centrifugamos a amostra de sangue por 10 minutos a 3.400rpm;
- Preparamos uma suspensão de hemácias a testar em bromelina (diluente 1), utilizando 500μl de bromelina e 25μl do concentrado de hemácias;

- Homogeneizamos e deixamos as suspensões em temperatura ambiente por 10 minutos;
- Pipetamos 10 μ l da suspensão e dispensamos nos respectivos microtubos específicos para os sistemas acima relacionados;
- Centrifugamos e efetuamos a leitura: hemácias presentes na superfície ou na extensão da coluna do gel significa presença do antígeno correspondente nas hemácias. Hemácias depositadas no fundo da coluna de gel, ausência do antígeno.

Para os antígenos dos sistemas MNS e Duffy foi utilizada a seguinte técnica:

- Centrifugamos a amostra de sangue por 10 minutos a 3.400 rpm;
- Preparamos uma suspensão de hemácias a testar, com 1 ml de Liss (diluente 2) e 10 μ l do concentrado de hemácias;
- Homogeneizamos
- Pipetamos 50 μ l da suspensão e dispensamos nos microtubos específicos para cada antígeno do sistema MNS;
- Pipetamos 10 μ l dos anti-soros específicos (anti-M, anti-N, anti-S, anti-s) nos microtubos correspondentes;
- Deixamos repousar por 10 minutos em temperatura ambiente;
- Centrifugamos e efetuamos a leitura: hemácias presentes na superfície ou na extensão da coluna do gel significa presença do antígeno eritrocitário. Hemácias depositadas no fundo da coluna de gel, ausência do antígeno.

Materiais e equipamentos utilizados:

- Centrífuga para a separação de soro/plasma/hemácias;
- Centrífuga (ID-centrífuga especial)
- Cartelas DIAMED específicas para os antígenos pesquisados;
- ID-Diluente 1 (Bromelina);
- ID-Diluente 2 (Liss);
- ID-Soros anti-M, anti-N, anti-S, anti-s, anti-Fy^a e anti-Fy^b;

- Pipetas automáticas/ ponteiras;
- Tubos de hemólise;
- Pincel retroprojetor;
- Estantes para os tubos de hemólise;
- Relógio;
- Papel absorvente/ gase.

Análise estatística

Calculamos a frequência de cada fenótipo encontrado e utilizamos o Quiquadrado para análise estatística dos resultados.

IV. RESULTADOS

Foram estudados 1483 doadores, dos dois sexos, com faixa etária de 18-60 anos. As freqüências fenotípicas dos principais sistemas de grupos sanguíneos foram distribuídas de acordo com o sexo dos doadores da amostra analisada, as quais foram objeto de pesquisa deste trabalho.

O perfil da população estudada, quanto ao sexo, está exposto na tabela 2 e as freqüências fenotípicas dos sistemas de grupos sanguíneos estão dispostas nas tabelas 3 a 10.

Tabela 2- Distribuição dos 1483 doadores de sangue do HEMOCE quanto ao sexo.

SEXO	Nº DE DOADORES	%
Masculino	1272	85,77
Feminino	211	14,23
TOTAL	1483	100

Na tabela 3, está relacionada a classificação sanguínea dos 1483 doadores que fizeram parte do estudo, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 3- Classificação sanguínea ABO e Rh(D) nos 1483 doadores de sangue do HEMOCE, quanto ao sexo.

TIPO	Fator Rh	Masculino		Feminino	
		nº	(%)	nº	(%)
A	POSITIVO	502	39,47	85	40,28
A	NEGATIVO	10	0,79	1	0,47
O	POSITIVO	748	58,81	120	56,87
O	NEGATIVO	12	0,94	5	2,37
	TOTAL	1272	100	211	100

Na tabela 4, estão relacionadas as freqüências fenotípicas do sistema Rh considerando todos os tipos de nomenclatura citados na literatura (ISBT, Fisher-Race, Shorthand e Wiener), distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 4 – Freqüências fenotípicas do sistema Rh em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Fenótipos			Possíveis genótipos Rh		Freqüência fenotípica dos doadores de sangue do HEMOCE				Nº de doadores analisados
ISBT	Fisher-Race (CDE)	Shortland	Fisher-Race (CDE)	Wiener Rh-hr	Masculino nº	Masculino %	Feminino nº	Feminino %	
RH: 1,2,-3,4,5	CcDe	R ₁ r	CDe/cde CDe/cDe Cde/cDe	R ¹ R ⁰ R ¹ R ⁰ r ¹ r ⁰	467	36,71	89	42,18	556
RH: 1,2,-3,-4,5	CDe	R ₁	CDe/CDe CDe/Cde	R ¹ R ¹ R ¹ r ⁰	200	15,72	38	18,01	238
RH: 1,2,3,4,5	CcDEe	R ₁ R ₂	CDe/cDe cDE/Cde CDe/cdE	R ¹ R ² R ² r ⁰ R ¹ r ⁰	185	14,54	21	9,95	206
			CDE/cde CDE/cDe cDe/CdE	R ² r ⁰ R ² 0 R ⁰ r ⁰	1	0,08	0	0,00	1
RH: 1,-2,3,4,5	cDEe	R ₂ r	cDE/cde cDE/cDe cDe/cdE	R ₂ r	176	13,84	23	10,90	199
RH: 1,-2,3,4,-5	cDE	R ₂	cDE/cDE cDE/cdE	R ₂	41	3,22	9	4,27	50
RH: 1,-2,-3,4,5	cDe	R ₀	cDe/cde cDe/cDe	R ⁰ r ⁰ R ¹ r ⁰	167	13,13	25	11,85	192
RH: 1,2,3,-4,5	CDEe	R ₁ R ₂	CDe/CDE CDe/CdE CDE/Cde	R ¹ R ² R ¹ r ⁰ R ² r ⁰	6	0,47	2	0,95	8
RH: 1,2,3,4,-5	CcDE	R ₂ R ₂	CDE/cDE CDE/cdE cDE/CdE	R ² R ² R ² r ⁰ R ² r ⁰	7	0,55	0	0,00	7
RH: 1,2,3,-4,-5	CDE	R ₂	CDE/CDE CDE/CdE	R ² R ² R ² r ⁰	0	0,00	0	0,00	0
RH:-1,-2,-3,4,5	ce	r	cde/cde		19	1,49	4	1,90	23
RH:-1,2,-3,4,5	Cce	r'r	Cde/cde	r'r	3	0,24	0	0,00	3
RH:-1,2,-3,-4,5	Ce	r'	Cde/Cde	r'r'	0	0,00	0	0,00	0
RH:-1,2,-3,4,5	Cc ^s e	r ^s	Ccde ^s /cde	r ^s r	0	0,00	0	0,00	0
RH:-1,-2,3,4,5	cEe	r"r	cdE/cde	r"r	0	0,00	0	0,00	0
RH:-1,-2,3,4,-5	cE	r"	CdE/cdE	r"r"	0	0,00	0	0,00	0
RH:-1,2,3,4,5	CcEe	r'r"	Cde/cdE	r'r"	0	0,00	0	0,00	0
		r _y r	Cde/cdE	r _y r	0	0,00	0	0,00	0
RH:-1,2,3,-4,-5	CE	r _y	CdE/CdE	r _y r _y	0	0,00	0	0,00	0
TOTAL					1272	100	211	100	1483

Na tabela 5, estão relacionadas as freqüências fenotípicas do sistema Duffy, da amostra em estudo, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 5 – Freqüência dos fenotípicas do sistema Duffy em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Fenótipos do sistema Duffy		Masculino		Feminino		Total de doadores	
ISBT	Antiga nom.	nº	(%)	nº	(%)	nº	(%)
FY: 1, -2	Fy (a+b-)	340	26,73	61	28,91	401	27,04
FY: 1, 2	Fy (a+b+)	441	34,67	63	29,86	504	33,99
FY: -1, 2	Fy (a-b+)	440	34,59	80	37,91	520	35,06
FY: -1, -2	Fy (a-b-)	51	4,01	7	3,32	58	3,91
TOTAL		1272	100	211	100	1483	100

Na tabela 6, estão relacionadas as freqüências fenotípicas do sistema Kidd dos 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 6 – Freqüências fenotípicas do sistema Kidd em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Fenótipos do sistema Kidd		Masculino		Feminino		Total de doadores	
ISBT	Antiga nom.	nº	(%)	nº	(%)	nº	(%)
JK: 1, -2	Jk (a+b-)	413	32,47	78	36,97	491	33,11
JK: 1, 2	Jk (a+b+)	578	45,44	93	44,08	671	45,25
JK: -1, 2	Jk (a-b+)	281	22,09	40	18,96	321	21,65
JK: -1, -2	Jk (a-b-)	0	0,00	0	0,00	0	0,00
TOTAL		1272	100	211	100	1483	100

Na tabela 7, estão relacionadas as freqüências fenotípicas do sistema MNS dos 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 7 – Freqüências fenotípicas do sistema MNS em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Fenótipos do sistema MNS		Masculino		Feminino		Total de doadores	
ISBT	Antiga nom.	Nº	(%)	nº	(%)	nº	(%)
MNS:1,-2,3,-4	M+N-S+s-	73	5,74	29	13,74	102	6,88
MNS:1,-2,-3,4	M+N-S-s+	176	13,84	35	16,59	211	14,23
MNS:1,-2,3,4	M+N-S+s+	241	18,95	27	12,80	268	18,07
MNS:1,2,3,-4	M+N+S+s-	58	4,56	9	4,27	67	4,52
MNS:1,2,-3,4	M+N+S-s+	283	22,25	41	19,43	324	21,85
MNS:1,2,3,4	M+N+S+s+	224	17,61	38	18,01	262	17,67
MNS:-1,2,3,-4	M-N+S+s-	14	1,10	1	0,47	15	1,01
MNS:-1,2,3,4	M-N+S+s+	63	4,95	11	5,21	74	4,99
MNS:-1,2,-3,4	M-N+S-s+	140	11,01	20	9,48	160	10,79
MNS:1,2,-3,-4	M+N+S-s-	0	0,00	0	0,00	0	0,00
TOTAL		1272	100	211	100	1483	100

Na tabela 8, estão relacionadas as freqüências fenotípicas do sistema P na amostra em estudo, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 8 – Freqüências fenotípicas do sistema P em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Fenótipos do sistema P		Masculino		Feminino		Total de doadores	
ISBT	Antiga nom.	nº	(%)	nº	(%)	nº	(%)
P: 1	P1 +	1035	81,37	160	75,83	1195	80,58
P: -1	P1 -	237	18,63	51	24,17	288	19,42
TOTAL		1272	100	211	100	1483	100

Na tabela 9, estão relacionadas as freqüências fenotípicas do sistema Kell da amostra estudada, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 9 – Freqüências fenotípicas do sistema Kell em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Fenótipos do sistema Kell		Masculino		Feminino		Total de doadores	
ISBT	Antiga nom.	nº	(%)	nº	(%)	nº	(%)
K: 1	K +	40	3,14	14	6,64	54	3,64
K: -1	K -	1232	96,86	197	93,36	1429	96,36
	TOTAL	1272	100	211	100	1483	100

Na tabela 10, estão relacionadas as freqüências fenotípicas do sistema Lewis em uma amostra de 1483 doadores, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 10 – Freqüências fenotípicas do sistema Lewis em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Fenótipos do sistema Lewis		Masculino		Feminino		Total de doadores	
ISBT	Antiga nom.	Nº	(%)	nº	(%)	nº	(%)
LE: 1, -2	Lê (a+b-)	153	12,03	26	12,32	179	12,07
LE: 1, 2	Lê (a+b+)	11	0,86	2	0,95	13	0,88
LE: -1, 2	Lê (a-b+)	866	68,08	149	70,62	1015	68,44
LE: -1, -2	Lê (a-b-)	242	19,03	34	16,11	276	18,61
	TOTAL	1272	100	211	100	1483	100

Na tabela 11, estão relacionadas as freqüências fenotípicas do sistema Lutheran da amostra em estudo, distribuídas quanto ao sexo.

Tabela 11 – Freqüências fenotípicas do sistema Lutheran em uma amostra de 1483 doadores de sangue do HEMOCE, distribuídas quanto ao sexo.

Fenótipos do sistema Lutheran		Masculino		Feminino		Total de doadores	
ISBT	Antiga nom.	nº	(%)	nº	(%)	nº	(%)
LU: 1, -2	Lu (a+b-)	1	0,08	1	0,47	2	0,13
LU: 1, 2	Lu (a+b+)	77	6,05	11	5,21	88	5,93
LU: -1, 2	Lu (a-b+)	1193	93,79	199	94,31	1392	93,86
LU: -1, -2	Lu (a-b-)	1	0,08	0	0,00	1	0,07
	TOTAL	1272	100	211	100	1483	100

Na tabela 12, estão relacionadas as freqüências fenotípicas do sistemas Duffy, Kidd, Kell, Lewis e P dos 1483 doadores de sangue do HEMOCE e de outras regiões brasileiras ⁽¹⁷⁾, vale ressaltar que o Ceará está incluso na região Nordeste.

Tabela 12 – Distribuição das freqüências fenotípicas dos sistemas Duffy, Kidd, Lewis, P e Kell dos 1483 doadores de sangue do HEMOCE e de outras regiões do Brasil.

ISBT	Fenótipos Antiga nom.	Ceará (%)	Nordeste (%)	Norte (%)	Sul (%)	Sudeste (%)
FY:1,-2	Fy (a+b-)	27,04	27,50	32,00	27,00	23,50
FY:1,2	Fy (a+b+)	33,99	32,20	37,60	35,00	28,60
FY:-1,2	Fy (a-b+)	35,06	33,00	26,90	37,00	37,70
FY:-1,-2	Fy (a-b-)	3,91	7,30	3,40	2,00	10,20
JK:1,-2	Jk (a+b-)	33,11	33,70	30,60	25,10	37,90
JK:1,2	Jk (a+b+)	45,25	44,70	50,10	50,60	43,30
JK:-1,2	Jk (a-b+)	21,65	21,60	18,80	23,60	18,10
JK:-1,-2	Jk (a-b-)	0,00	0	0,50	0,70	0,60
LE:1,-2	Le(a+b-)	12,07	9,80	10,00	12,20	14,80
LE:1,2	Le(a+b+)	0,88	0,20	0,30	9,20	0,28
LE:-1,2	Le(a-b+)	68,44	54,90	65,40	66,40	63,40
LE:-1,-2	Le(a-b-)	18,61	35,20	24,30	12,20	21,60
P:1	P1 +	80,58	79,50	81,60	81,60	82,90
P:-1	P1 -	19,42	20,50	18,40	18,40	17,10
K:1	K +	3,64	4,60	3,10	6,90	5,80
K:-1	K -	96,36	95,40	96,90	93,10	94,20

Fonte: Oliveira, M. C. V. C. : Freqüência dos grupos sanguíneos em doadores de sangue no Brasil. SBHH e Hemocentros da rede oficial, 2001.

V. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O estudo dos sistemas de grupos sanguíneos e suas implicações médico-legais, antropológicas e clínicas têm sido objeto de inúmeros estudos desde o início do século, com grande impacto na redução da morbimortalidade por reações hemolíticas transfusionais e perinatal.

Em nosso estudo, calculamos a freqüência fenotípica em 1483 doadores de sangue do HEMOCE, para os seguintes sistemas:

- Rh (Antígenos pesquisados: RH 1, RH 2, RH 3, RH 4, RH 5, RH 8);
- Duffy (Antígenos pesquisados: FY 1 e FY 2);
- Lewis (Antígenos pesquisados: LE 1 e LE 2);
- Kidd (Antígenos pesquisados: JK 1 e JK 2);
- Kell (Antígeno pesquisado: KEL 1);
- MNS (Antígenos pesquisados: MNS 1, MNS 2, MNS 3, MNS 4);
- Lutheran (Antígenos pesquisados: LU 1 e LU 2).

As freqüências fenotípicas obtidas foram comparadas quanto ao sexo e com os resultados disponíveis na literatura nacional.

SISTEMA ABO

Na amostra estudada, observamos que o tipo sanguíneo O é o mais freqüente nos dois sexos (59,67%), com maior freqüência o tipo O positivo (Tab.3), sem diferença estatisticamente significante entre os sexos ($p= 0,3085$).

Como não fizeram parte do nosso estudo os doadores de sangue com classificação B e AB, não pudemos comparar com os resultados nacionais disponíveis. Contudo, consideramos enriquecedor citá-los. Segundo NOVARETTI, M. C. Z., em estudo realizado com a população da cidade de São Paulo, evidenciou-se predomínio do tipo sanguíneo O (49,22%) em relação aos outros: A (33,71%); B (13,93%) e AB (3,12%). Em estudo realizado com hemocentros das cinco regiões brasileiras, evidenciou-se predomínio de doadores do tipo O sobre os outros tipos sanguíneos, sem diferenças estatisticamente significantes de uma região para outra.

SISTEMA Rh

De acordo com os resultados encontrados, o fenótipo mais freqüente é o RH: 1, 2, -3, 4, 5 (CcDee), nos dois sexos. Em nosso estudo não observamos diferença significativa de freqüência fenotípica do sistema Rh entre os dois sexos ($p=0,39749$).(Tabela 4).

Segundo NOVARETTI, M.C.Z., em estudo realizado com a população do estado de São Paulo, a freqüência fenotípica absoluta para os seguintes fenótipos do sistema Rh foi: RH: 1, 2, -3, 4, 5 (CcDe), 22,09%; RH: 1, 2, -3, -4, 5 (CDe), 9,26%; RH: 1, 2, 3, 4, 5 (CcDEe), 13,48%; RH: 1, 2, 3, -4, 5 (CDEe), 8,28%; RH: 1, 2, 3, 4, -5 (CcDE), 2,39%; RH: -1, 2, -3, 4, 5 (Cce), 0,81%.

Em relação aos resultados expostos acima, observamos diferença estatisticamente considerável entre as populações do Ceará e São Paulo para os fenótipos RH: 1, 2, -3, 4, 5 (CcDe), com $p= 0,000$; RH: 1, 2, -3, -4, 5 (CDe), com $p= 0,000$; RH: 1, 2, 3, 4, 5 (CcDEe), com $p=0,000$, RH: 1, 2, 3, -4, 5 (CDEe), com $p= 0,000$; RH: 1, 2, 3, 4, -5 (CcDE), COM $P=0,000$; e RH: -1, 2, -3, 4, 5 (Cce), com $p=0,0146$.

SISTEMA DUFFY

Na amostra em estudo, observamos que não há diferença na freqüência fenotípica entre os sexos, com $p=0,5043$.(Tabela 5).

Na tabela 12, expomos as freqüências fenotípicas do sistema Duffy nas demais regiões brasileiras, encontradas na literatura ⁽¹⁷⁾, e comparamos com os resultados obtidos no trabalho em questão, onde observamos que há diferença estatística em relação à freqüência do fenótipo FY:-1, 2, quando comparado ás regiões Norte ($p=0,048$) e Sudeste ($p=0,026$), assim como com o fenótipo FY:1, 2 em relação á região Sudeste ($p=0,000$).

Observamos também diferença na freqüência do fenótipo FY: -1,2 em relação ás regiões Norte ($p=0,002$) e Sudeste ($p=0,047$), e do fenótipo FY:-1, -2 em relação ás regiões Nordeste ($p=0,0001$) e Sudeste ($p=0,000$).

SISTEMA KIDD

Em relação aos抗ígenos do sistema Kidd, o fenótipo mais freqüente foi o JK: 1, 2, sem diferença significativa entre os sexos, com $p=0,3675$. Não tivemos nenhum doador com o fenótipo JK: -1, -2 (Tab.6).

De acordo com a tabela 12 (apresentada anteriormente), observamos diferença de freqüência para o fenótipo JK:1, -2 em relação às regiões Sul ($p=0,007$) e Sudeste ($p=0,003$); assim como para o fenótipo JK:1, 2 em relação à região Sul ($p=0,034$).

Quando comparamos as frequências do fenótipo JK:-1, 2, observamos diferença também estatisticamente significativa em relação à região Sudeste ($p=0,0009$), (Tab. 12).

Quando comparamos com os resultados obtidos no estudo de NOVARETTI, M. C. Z., observamos diferença de freqüência entre os fenótipos JK:1, -2 ($p=0,000$) e JK: -1, -2 ($P=0,000$).

SISTEMA MNS

Quanto aos抗ígenos deste sistema, em nosso estudo verificamos que o fenótipo mais freqüente foi o MNS: 1, 2, -3, 4 (M+N+S-s+), representando 21,85% da amostra (Tab. 7). Observamos diferença estatisticamente significativa entre os sexos, com $p=0,00285$.

Em relação à literatura estudada ⁽¹⁶⁾, observamos diferença estatisticamente significativa em relação aos fenótipos MNS:1, -2, 3, -4 ($P= 0,0002$); MNS: 1, -2, 3, 4 ($P= 0,000$); MNS: 1,2,-3,4 ($P= 0,0001$) e MNS: -1, 2, -3, 4 ($P= 0,0084$).

SISTEMA P

Neste estudo, evidenciamos que o抗ígeno P 1 está presente em 80,58% dos doadores (Tab.8), sem diferença estatística quanto ao sexo ($P= 0,0596$).

Quando comparamos com as demais regiões brasileiras, observamos diferença significativa em relação à região Sudeste: P:1 ($p= 0,0276$) e P: -1 ($P= 0,0276$). (Tab.12).

SISTEMA KELL

O antígeno KEL 1 está ausente em 96,36% da amostra (Tab.9), com diferença de freqüência significativa entre os sexos ($p= 0,0121$), mais frequente no sexo masculino, assim como em relação às regiões Sul ($p= 0,0005$) e Sudeste ($p=0,0012$), (Tab.12).

SISTEMA LEWIS

De acordo com os resultados obtidos, o fenótipo mais freqüente foi o LE: -1, 2 com freqüência de 68,44%, nos dois sexos (Tab. 10), e o fenótipo LE: 1, 2 o menos freqüente.

Em comparação com os dados disponíveis na literatura nacional ⁽¹⁷⁾, observamos que há diferença estatisticamente significativa entre as freqüências do fenótipo LE: 1, -2 em relação à região Sudeste ($p= 0,0051$); do fenótipo LE: 1, 2 em relação às regiões Nordeste ($p= 0,000$), Sul ($p= 0,000$) e Sudeste ($p= 0,003$); do fenótipo LE: -1, 2 em relação às regiões Nordeste ($p= 0,000$) e Sudeste ($p= 0,0001$) e do fenótipo LE: -1, -2 em relação às regiões Nordeste ($p= 0,000$), Norte ($p=0,01$) e Sudeste ($p= 0,0083$), (Tab.12).

Vale ressaltar que, no estudo mencionado acima ⁽¹⁷⁾ (Tab. 12), a região Nordeste está representada pelas cidades de São Luiz, Fortaleza e Recife.

SISTEMA LUTHERAN

Nos dois sexos, o fenótipo mais freqüente certamente foi o LU: -1, 2, com freqüência de 93,86% (Tab.11). Encontramos três doadores LU 2 negativos pertencentes à mesma família, sendo um deles portador do fenótipo LU: -1, -2.

Em relação aos resultados descritos na literatura ⁽¹⁶⁾, não observamos diferença estatisticamente significativa.

VI. CONCLUSÃO

É indiscutível o avanço atribuído à medicina transfusional com a descoberta dos diversos sistemas de grupos sanguíneos. As taxas de aloimunização e de mortalidade por acidentes transfusionais diminuíram acentuadamente, assim como, favoreceu o diagnóstico das inúmeras entidades patológicas relacionadas.

Neste trabalho, observamos diferença estatisticamente significante quanto à freqüência fenotípica entre os sexos para os sistemas MNS e Kell. Observamos também, que as frequências fenotípicas dos sistemas de grupos sanguíneos em estudo diferem de uma região para outra, justificado pela intensa miscigenação do povo brasileiro.

Mediante os resultados obtidos, fica evidente a necessidade de mais estudos do assunto em questão, assim como reforça a importância da imunofenotipagem eritrocitária de rotina para os sistemas Duffy, Kell, Kidd, MNS, P, Lewis e Lutheran.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ANSTEE, D. J.: The structure and function of Rh antigens – from monkeys to worms. *Immunohematology*, v. 15, n. 1, p.2-4, 1999.
02. BECK, M. L.: Monoclonal antibodies as blood grouping reagents. *Immunohematology*, v. 15, n. 1, p.10-14, 1999.
03. BECK, M. L.: The Lutheran blood group system: a review. *Immunohematology*, v.14, n. 3, p. 94-100, 1998.
- ✓04. COLIN, Y. and CARTRON, J.P.: Structural and functional diversity of blood group antigens. *Transfusion*, v.8, n. 3, p. 163-199, 2001.
05. DANIELS, G.: Terminology for red cell antigens- 1999 update. *Immunohematology*, v. 15, n. 3, p.95-99, 1999.
06. GREEN, A. M. and TELEN, M. J.: Human red cell antigens: Expression of *In(Lu)*-related p80 antigens by recessive- type Lu(a-b-) red cells. *Transfusion*, v.28, n. 5, p. 430-434, 1988.
07. HANNON, J. L. and PADGET, B. J.: Discrepancies in Rh(D) typing of sensitized red blood cells using monoclonal/polyclonal anti-D reagents: case report and review. *Immunohematology*, v.17, n. 1, p.10-13, 2001.
08. HERNANDEZ DIAZ, P. ET AL.: Variantes fenotípicas y moleculares Del antígenoRh(D). *Transfusión*, v. 26, n. 2, p. 131-140, 2000.
09. ISSITT, P.D.: From kill to overkill: 100 years of (perhaps too much) progress. *Immunohematology*, v. 16, n. 1, p.18-24, 2000.
10. ISSIT, P.D. ET AL.: Studies on the blood of a Dc(e) homozygote and her family. *Transfusion*, v. 28, n. 5, p. 439-443, 1988.
11. KLINE, W.E. ET AL: A rare exemple of weakened expression of the Kell (K₁) antigen. *Vox Sang.*, v. 47, p.170-173, 1984.
- ✓12. LIMA, L.M.A.; *Curso de Imunohematologia*, Botucatu-SP. Faculdade de Medicina UNESP, 1992.

13. LORENZI, T. F. **Manual de Hematologia**. 2. ed. São Paulo: MEDSI, 1999, p.76-91.
14. MEANS, N.D. ET AL.: Likelihood of D heterozygosity in mestizo Mexicans and Mexican Americans. **Immunohematology**, v.17, n.1, p.22-23, 2001.
15. MOULDS, J. J. and HENRY, S. M.: Preview 2000: proposal for a new terminology to describe carbohydrate histo-blood group antigens/glycotypes within the ISBT terminology framework. **Immunohematology**, v.16, n. 1, p.49-56, 2000.
16. NOVARETTI, M. C. Z.: Fenotipagem eritrocitária e identificação de anticorpos irregulares. **Escola Brasileira de Hematologia: Série de monografias**, v.5, p.20-33, 1998.
17. OLIVEIRA, M. C. V.C.: Freqüência dos grupos sanguíneos em doadores de sangue no Brasil. **Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia (SBHH) e Hemocentros da rede Oficial**, 2001.B
18. PELLIZA, S. M. ET AL.: Manual de imunohematologia básica. 1. Ed. Rio de Janeiro: Centro de Hematologia de Santa Catarina, 1977. 149p.
19. PETZ, L.D., SWISHER, S.N. **Clinical Practice of Transfusion Medicine**: 2. ed. Nova Iorque: Churchill Livingstone Ed., 1989. 790p.
20. REID, M. E. and LEE, A. H.: ABO blood group system: a review of molecular aspects. **Immunohematology**, v.16, n.1, p.1-6, 2000.
21. REID, M. E.: Contribution of MNS to the study of glicoforin A e glicoforin B. **Immunohematology**, v. 15, n. 1, p.5-9, 1999.
22. REID, M. E. and LOMAS-FRANCIS, C.: The Rh blood group system: the first 60 years of discovery. **Immunohematology**, v. 16, n. 1, p. 7-17, 2000.
23. REINER, A. P. ET AL.: Hemolytic transfusion reaction due to interdonor Kell incompatibility: Report of two cases and review of the literature. **Arch Pathol Lab Med**, v. 114, p. 862-864, 1990.
24. ROUGER, P. ET AL.: Detection of the H and I blood group antigens in normal plasma: A comparison with A and i antigens. **Vox Sang.**, v. 37, p. 78-83, 1979.

25. RUOGER, Ph. ET AL.: Relationship between I and H antigens: A study of the plasma and saliva of a normal population. *Transfusion*, v. 20, n. 5, p.536-539, 1980.
26. SCHOROEDER, M. L. and RAYNER, H. L. Antígenos de Hemácias, Plaquetas e Leucócitos. In: WINTROBE, M. M. *Hematologia Clínica*. 9^a ed. (1^a ed. Brasileira). São Paulo: Editora Manole, 1998. Vol. II, cap. 20, p.669-707.
27. Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia (diversos autores): **Imunohematologia eritrocitária – Sistema de treinamento á distância**. Belo Horizonte: IEA Editora, 1996. 12v.
28. SNYDER, E. L. ET AL.: Stability of red cell antigens and plasma coagulation factors stored in a non-diethylhexyl phthalate-plasticized container. *Transfusion*, v. 33, n.6, p.515-519, 1993.
- ✓ 29. STORRY, J. R.: A review: modification of the red blood cell membrane and its application in blood group serology. *Immunohematology*, v.16, n. 3, p.101-104, 2000.
30. VALDÉS, Y. A. ET AL.: Incidencia de la deficiencia de substancia H em los eritrócitos de los grupos A y AB. *Rev. Cubana Hematol.Imunol.Hemot.*, v.13, n. 2, p. 132-137, 1997.
- ✓ 31. ZAGO, M. A.: Bases moleculares dos grupos sanguíneos. **Escola Brasileira de Hematologia**, v.5, p.39-54, 1998.
32. ZELINSKI, T. ET AL.: The colton blood group locus: A linkage analysis. *Transfusion*, v. 28, n. 5, p. 435-438, 1988.