

Incidência de aloimunização eritrocitária em pacientes com doença falciforme: experiência de um centro em São Paulo

Incidence of alloimmunization in sickle cell disease: experience of a center in São Paulo

Ricardo Helman¹, Rodolfo Delfini Cançado², Cristina Olivatto²

RESUMO

Objetivo: Identificar a incidência de aloimunização em pacientes com doença falciforme, a incidência de autoanticorpos e o perfil fenotípico dos pacientes para os seguintes grupos de antígenos eritrocitários: Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS. **Métodos:** Foram avaliados 57 pacientes em acompanhamento no Ambulatório de Anemias da Irmandade da Santa Casa de São Paulo, sendo realizada a pesquisa de anticorpos irregulares e a fenotipagem eritrocitária. **Resultados:** A mediana de idade foi de 25 anos, sendo que 22,6% dos pacientes apresentavam anticorpos irregulares. O anticorpo anti-Kell foi o mais frequente (7,5%), seguido de anti-C (5,7%). **Conclusão:** Foi determinada a prevalência de aloimunização e de pacientes com autoanticorpos em indivíduos com anemia falciforme seguidos no Ambulatório de Anemias da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São de Paulo. O risco de aloimunização foi maior em pacientes que receberam mais do que 3 unidades de hemácias nos últimos 2 anos. Os aloanticorpos mais prevalentes foram anti-Kell e anti-C.

Descritores: Anemia falciforme/imunização; Transfusão de sangue; Auto-anticorpos; Antígenos de grupos sanguíneos

ABSTRACT

Objective: To identify the incidence of alloimmunization in sickle cell disease patients, as well as autoantibodies and the phenotypic profile of these patients for the following erythrocyte antigen groups: Rh, Kell, Kidd, Duffy and MNS. **Methods:** fifty-seven patients were evaluated during follow-up at the Anemia Outpatient Clinic of Irmandade da Santa Casa de São Paulo, where a search for irregular antibodies and phenotyping was carried out. **Results:** Patients' median alloimmunization age in sickle cell disease was 25 years, and irregular antibodies were found in 22.6% of them. Anti-Kell antibody was the

most frequent (7.5%) followed by anti-C (5.7%). **Conclusion:** The prevalence of alloimmunization and of patients with autoantibodies among individuals with sickle cell disease followed at the Anemia Outpatient Clinic of Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São de Paulo was determined. The risk of alloimmunization was higher in patients who received more than 3 red blood cell units in the past 2 years. The most prevalent alloantibodies were anti-Kell and anti-C.

Keywords: Anemia, sickle cell/immunology; Blood transfusion; Autoantibodies; Blood group antigens

INTRODUÇÃO

A doença falciforme é uma das doenças hereditárias mais prevalentes no mundo. Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS), a incidência mundial das hemoglobinopatias é de aproximadamente 4,5%⁽¹⁾. A distribuição do gene S no Brasil é bastante heterogênea e depende basicamente da miscigenação da população brasileira. No Brasil, a prevalência de heterozigotos para hemoglobina S é maior nas regiões Norte e Nordeste⁽¹⁾.

Segundo dado do Ministério da Saúde do Brasil, estima-se que existam cerca de 7 milhões de portadores do traço falciforme e que a incidência anual de nascidos vivos com traço falciforme seja de 200.000⁽¹⁾. Em relação à doença falciforme, o número estimado de brasileiros com anemia falciforme está entre 25 mil e 30 mil pessoas, e a incidência de casos novos por ano é estimada em próxima de 3.500⁽¹⁾.

A hemoglobina S é formada pela substituição de uma timina por uma adenina, no sexto códon do gene

Trabalho realizado no Ambulatório de Anemias da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São de Paulo – São Paulo (SP), Brasil.

¹ Hematologia e Transplante de Medula Óssea, Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE – São Paulo (SP), Brasil.

² Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – FCMSCSP, São Paulo (SP), Brasil.

Autor correspondente: Ricardo Helman - Avenida Albert Einstein, 627/701 – Sala 520 - Morumbi - CEP 05651-900 - São Paulo (SP), Brasil - Tel.: (11) 8202-5132 - e-mail: helman@einstein.br

Data de submissão: 1/1/2011 - Data de aceite: 19/4/2011

Conflitos de interesse: não há

beta, levando à inserção de valina ao invés de glutamina, na posição seis da cadeia beta, dando origem à hemoglobinopatia SS, também chamada de anemia falciforme. Essa pequena mudança na estrutura da cadeia é responsável por profundas alterações na estabilidade da molécula e em sua solubilidade. Tal mudança é capaz de causar polimerização das cadeias de hemoglobina quando ocorre sua desoxigenação^(2,3).

Na década de 1930, foi reconhecido o papel das transfusões sanguíneas no tratamento das crises de dor e manejo dos fenômenos vaso-oclusivos^(3,4). A utilização de transfusões sanguíneas tem tido importância no tratamento de pacientes com acidente vascular cerebral e profilaxia de novos eventos isquêmicos^(4,5).

Os programas de transfusões sanguíneas crônicas estão se tornando cada vez mais comuns em nosso meio por dois motivos principais: a infusão de eritrócitos aumenta a capacidade de carregamento de oxigênio e diminui a hipóxia tecidual^(5,6).

As complicações do tratamento com transfusões crônicas incluem o risco de infecções por agentes virais e bacterianos, a sobrecarga de ferro e a aloimunização eritrocitária, cuja frequência pode variar de 2,5 a 76% em certos centros^(6,7).

A aloimunização limita a disponibilidade de concentrados de hemácias compatíveis para futuras transfusões, além de ser risco de hemólise tardia e de quadros graves de hiper-hemólise. A aloimunização está relacionada aos seguintes fatores: idade do paciente, número de transfusões recebidas, diferenças antigênicas entre pacientes e doadores⁽⁸⁻¹⁰⁾.

Os antígenos mais frequentemente envolvidos na aloimunização são os antígenos dos grupos Rh, Kell, Kidd, Duffy, Lewis e MNS^(9,11).

OBJETIVO

Avaliar a incidência de aloimunização eritrocitária em pacientes com doença falciforme em acompanhamento em um único centro na cidade de São Paulo, a incidência de autoanticorpos e o perfil fenotípico dos pacientes para os seguintes grupos de antígenos eritrocitários: Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS.

MÉTODOS

Entre os anos de 2007 e 2008, foram identificados 57 pacientes com diagnóstico de doença falciforme em acompanhamento no Ambulatório de Anemias da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

Foram critérios de inclusão: diagnóstico de doença falciforme, com os fenótipos Hb SS, Hb SC, Hb S β +thal, Hb S β 0, Hb S α thal, sendo todos os diagnósticos

confirmados com exame de eletroforese de hemoglobina por imuno-eletroforese; idade superior a 14 anos; e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Os dados clínicos foram coletados por meio de questionário realizado com o próprio paciente ou com responsável legal. Foi critério de exclusão ter recebido transfusão sanguínea até 90 dias antes da inclusão no estudo.

Todo o material coletado foi enviado para o laboratório de imuno-hematologia do Banco de Sangue da Santa Casa de São Paulo, sendo realizada tipagem ABO e Rh, além de pesquisa de aloanticorpos contra antígenos eritrocitários, segundo protocolos técnicos padrão do banco de sangue.

Nos casos em que se observou a presença de anticorpos, foi realizada sua identificação por meio de reação de painel de hemácias marcadas, usando os métodos de aglutinação em coluna e de centrifugação em gel (ID-Diapanel e ID-Diapanel-P, DiaMed AG)^(12,13).

Após a identificação, foi realizada eluição dos anticorpos e, em seguida, a fenotipagem para os seguintes sistemas sanguíneos: Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS, conforme protocolo padrão do banco de sangue.

A análise estatística para análises de variáveis de associação foi feita pelos testes do χ^2 e de Mann-Whitney. Todos os testes foram realizados com o software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 15.

RESULTADOS

Dos 57 pacientes avaliados inicialmente, 4 pacientes não puderam ser fenotipados, pois apresentavam dupla população de antígenos, sendo excluídos da pesquisa.

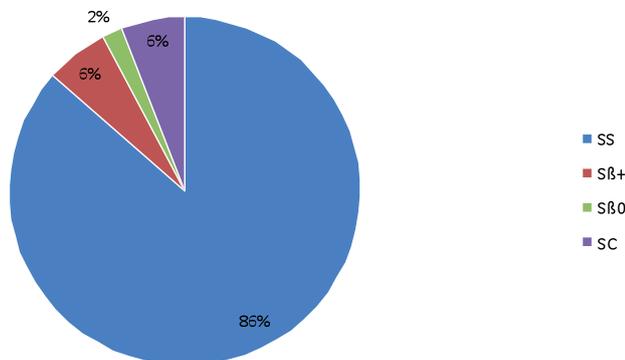
A amostra final foi constituída por 53 pacientes, sendo 30 mulheres (56,6%). A mediana de idade foi de 30 anos. Quanto à etnia, 44 pacientes eram negros (83%) e 9 brancos (17%). Em relação à escolaridade, 17 pacientes (32,1%) apresentavam apenas o ensino fundamental, 27 (50,9%) pacientes estudaram até o ensino médio e apenas 7 pacientes (13,2%) estudaram até o ensino superior (Tabela 1).

Tabela 1. Perfil epidemiológico dos pacientes portadores de doença falciforme

Perfil	Frequência
Idade	Mínima: 16 anos
	Máxima: 66 anos
	Mediana: 25 anos
Cor	Branco: 9
	Negro: 42
Escolaridade	Fundamental: 17
	Médio: 29
	Superior: 7

Fonte: Ambulatório de Anemias da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

Em relação ao diagnóstico de doença de base, 45 pacientes eram SS (84,9%), três pacientes eram SC (5,7%), três pacientes eram Sβ+ (5,7%), foi encontrado apenas 1 paciente com os diagnósticos Sβ-thal (1,9%) e Sα/thal (1,9%) (Figura 1).



Fonte: Ambulatório de Anemias da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

Figura 1. Fenótipo dos pacientes com doença falciforme

Quanto ao número de transfusões recebidas ao longo da vida, os resultados podem ser vistos na tabela 2. Dos pacientes que receberam transfusões sanguíneas, 9 (17%) estavam em regime de transfusão contínua.

Tabela 2. Número estimado de transfusões sanguíneas em pacientes com doença falciforme

Número de transfusões	Frequência (n)	Percentual (%)	Percentual cumulativo (%)
0 a 5	14	26,4	26,4
6 a 10	4	7,5	34,0
11 a 20	5	9,4	43,4
21 a 30	4	7,5	50,9
> 30	26	49,1	100
Total	53	53	100

Fonte: Ambulatório de Anemia Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

A presença de anticorpos irregulares foi positiva em 12 pacientes (22,6%) e negativa em 41 (77,4%). A presença de autoanticorpos foi positiva em seis (11,3%) pacientes.

Quanto à tipagem sanguínea para grupo ABO e Rh, os resultados podem ser visualizados nas tabelas 3 e 4, respectivamente.

Tabela 3. Tipagem sanguínea para grupos ABO dos pacientes com doença falciforme

Tipo sanguíneo	Frequência (n)	Percentual (%)	Percentual cumulativo (%)
A	11	20,8	20,8
AB	3	5,7	26,4
B	4	7,5	34,0
O	35	66,0	100,0
Total	53	100,0	100,0

Fonte: Ambulatórios de Anemia da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

Tabela 4. Tipagem sanguínea para grupo Rh do pacientes com doença falciforme

Tipagem Rh	Frequência (n)	Percentual (%)	Percentual cumulativo (%)
Rh +	50	94	94
Rh-	3	6	100
Total	53	100	100

Fonte: Ambulatório de Anemias da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

A frequência de antígenos eritrocitários pode ser vista na tabela 5 e a frequência do fenótipo Rh acha-se na tabela 6.

Tabela 5. Frequência de antígenos eritrocitários em pacientes com doença falciforme

Grupo sanguíneo	Frequência (n)	Percentual (%)
Kell 1	6	8
Kidd A	37	70
Kidd B	33	62
Duffy A	18	34
Duffy B	23	43
S	26	49

Fonte: Ambulatório de Anemias da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

Tabela 6. Frequência do fenótipo Rh dos pacientes com doença falciforme

Fenótipo Rh	Frequência (n)	Percentual (%)
R1r	22	41,0
R0r	11	20,8
R1R1	4	7,5
R1R2	3	5,7
rr	4	7,5
R2r	8	15,1
R2R2	1	1,9
Total	53	100

Fonte: Ambulatório de Anemias da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

A presença de aloanticorpos foi encontrada em 12 (22,6%) pacientes, sendo que 4 pacientes (7%) apresentaram 2 aloanticorpos diferentes e 1 paciente (1,8%) apresentou 4 aloanticorpos diferentes. No total, foram encontrados 15 aloanticorpos diferentes, sendo que, dos 15 aloanticorpos identificados, 33,3% foram contra antígenos do grupo Rhesus e 26,6% contra antígeno do grupo Kell. A especificidade dos aloanticorpos encontrados está registrada na tabela 7.

Tabela 7. Aloanticorpos específicos encontrados em 12 pacientes com doença falciforme

Anticorpos eritrocitários específicos	Frequência (n)	Percentual (%)	Percentual cumulativo (%)
Anti-E	1	6,6	6,6
Anti-K	4	26,6	33,2
Anti-Fy ^a	1	6,6	40,0
Anti-Jkb	1	6,6	46,6
Anti-C	3	20	66,6
Anti-Diego	3	20	86,6
Anti-D	1	6,6	93,2
Anti-LutA	1	6,6	100
Total	15	100	100

Fonte: Ambulatório de Anemias da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

O risco de aloimunização em relação a idade, sexo, genótipo, número de transfusões e número de transfusões nos últimos 2 anos não foi estatisticamente significativo, mas mostrou uma tendência de maior risco de aloimunização para pacientes com idade superior a 30 anos ($p < 0,658$). Em relação ao sexo, não houve diferença quanto ao risco de aloimunização, porém mulheres com número superior a três gestações apresentaram forte tendência a aloimunização ($p < 0,12$).

Em relação ao número de transfusões, observou-se que o risco para pacientes com número de transfusões superior a cinco ao longo da vida tende a ser maior do que para pacientes que receberam até cinco transfusões ($p < 0,106$); quando comparados os pacientes que receberam mais de 3 transfusões nos últimos dois anos aos pacientes que receberam até 3 transfusões, o risco de aloimunização é estatisticamente significativo ($p < 0,028$) (Figuras 2 e 3).

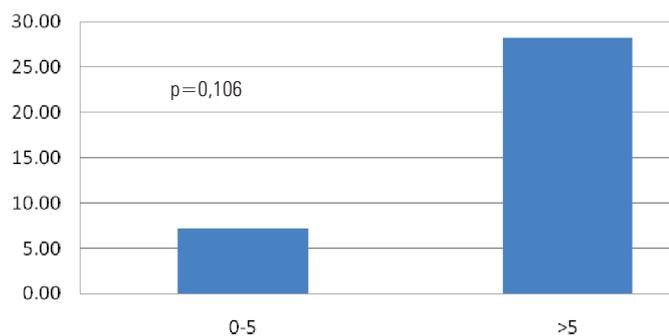


Figura 2. Risco de aloimunização por número de transfusões ao longo da vida

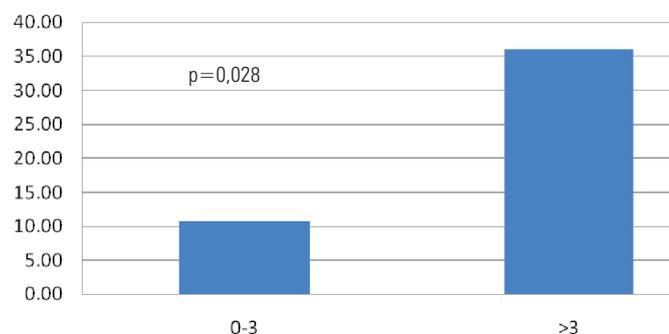


Figura 3. Risco de aloimunização por número de transfusões nos últimos dois anos

DISCUSSÃO

A frequência de aloimunização encontrada no estudo mostrou-se compatível com os dados de literatura. Vários estudos apresentam taxas que oscilam de 2,6 até 47%⁽⁹⁻¹¹⁾. Os estudos que apresentam as menores taxas de aloimunização incluem pacientes predominantemente da faixa pediátrica. No Brasil, são referidas taxas de aloimunização que variam de 3,2 a 20,8%^(11,12). Novamente, os trabalhos com menores taxas de aloimunização foram realizados

predominantemente com crianças abaixo de 15 anos de idade; neste estudo, nenhum paciente apresentava menos de 16 anos de idade, o que pode mostrar diferença no risco de aloimunização para pacientes mais velhos⁽⁹⁻¹¹⁾.

A maior frequência de aloimunização encontrada neste estudo, em comparação aos outros estudos brasileiros, pode ter ocorrido devido ao fato que aqui o método de identificação de anticorpos utilizado foi a centrifugação em tubo e em gel, aumentando a sensibilidade diagnóstica em relação aos outros estudos que utilizaram apenas metodologia de centrifugação em tubo^(12,13).

Contudo, no presente estudo, as taxas de aloimunização encontradas foram menores que em estudos estrangeiros, o que pode refletir maior compatibilidade de fenótipo entre doadores de sangue e pacientes nesta população. Outros estudos são necessários para confirmar essa hipótese, pois há apenas um estudo que compara o fenótipo de doadores e receptores de transfusão de sangue com doença falciforme no Brasil⁽¹⁰⁾.

A especificidade dos anticorpos encontrados neste estudo foi muito semelhante a de outros estudos, devido à alta imunogenicidade dos antígenos Rh e Kell^(9,13,14).

Embora a aloimunização seja descrita como mais prevalente em mulheres, no presente estudo, o sexo não foi considerado um fator de risco, seguindo a tendência de outros estudos nacionais^(14,15).

Assim como em outros estudos, pacientes com idade mais avançada mostraram tendência de maior risco de aloimunização, porém sem significância estatística. Maior resposta imunológica aos antígenos, maior número de transfusões e a presença de gestações prévias são alguns fatores que podem justificar maior taxa de aloimunização em adultos.

No presente estudo, o risco de aloimunização foi associado ao número de transfusões sanguíneas, o que foi concordante com a literatura^(12,14-16). O risco de aloimunização para os pacientes que receberam mais de 30 transfusões foi estatisticamente maior do que pacientes que receberam até 5 transfusões. Pacientes que receberam mais do que 3 transfusões nos últimos 2 anos apresentaram risco de aloimunização estatisticamente significativo maior do que pacientes que receberam até 3 unidades de hemácias nos últimos 2 anos. Esses dados estão de acordo com a literatura e são devidos, basicamente, à maior exposição dos pacientes transfundidos aos antígenos eritrocitários.

Ao contrário de outros países em que a raça foi um importante fator de risco de aloimunização, neste estudo tal fator não foi preponderante, bem como no nosso meio não houve discrepância fenotípica entre pacientes e doadores de sangue, provavelmente devido à maior miscigenação de nossa população.

Existem diferenças importantes na expressão do complexo Rh entre negros e caucasianos, sendo que in-

divíduos negros são mais propensos a serem D positivo em comparação aos caucasianos⁽¹⁷⁾. No nosso estudo, a maioria dos pacientes foi D positivo, sendo R1r e R2r os fenótipos Rh mais prevalentes.

CONCLUSÕES

Foi determinada a prevalência de aloimunização e de pacientes com autoanticorpos em indivíduos com anemia falciforme seguidos no Ambulatório de Anemias da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São de Paulo. O risco de aloimunização foi maior em pacientes que receberam mais do que 3 unidades de hemácias nos últimos 2 anos. Os aloanticorpos mais prevalentes foram anti-Kell e anti-C.

O aparecimento de aloimunização em pacientes com doença falciforme que recebem transfusões sanguíneas é um fator que pode ser importante obstáculo à sua terapêutica, dificultando o tratamento de complicações graves, como a síndrome torácica aguda e o acidente vascular cerebral. Medidas para prevenir a aloimunização devem ser tomadas pelos bancos de sangue.

REFERÊNCIAS

1. Cançado RD. Doenças falciformes. *Prática Hospitalar*. 2007;9(50):61-4.
2. Costa FF. *Hematologia: fundamentos e prática*. São Paulo: Atheneu; 2004.
3. Alexy T, Pais E, Armstrong JK, Meiselman HJ, Johnson CS, Fisher TC. Rheologic behavior of sickle and normal red blood cell mixtures in sickle plasma: implications for transfusion therapy. *Transfusion*. 2006;46(6):912-8.
4. Davies SC, Olatunji PO. Blood transfusion in sickle cell disease. *Vox Sang*. 1995;68(3):145-51.
5. Wang WC. *Wintrobe's clinical hematology*. Philadelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins; 2004.
6. Swerdlow PS. Red cell exchange in sickle cell disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006:48-53.
7. Fabrom Junior A, Bordin J. Estudo da significância clínica de aloanticorpos eritrocitários em pacientes com anemia falciforme [resumo]. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2001;23(2):121-2.
8. Sakhalkar VS, Roberts K, Hawthorne LM, McCaskill DM, Veillon DM, Caldito GC, et al. Allosensitization in patients receiving multiple blood transfusions. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1054:495-9.
9. Rosse WF, Gallagher D, Kinney TR, Castro O, Dosik H, Moohr J, et al. Transfusion and alloimmunization in sickle cell disease. The Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *Blood*. 1990;76(7):1431-7.
10. American Association of Blood Banks. *Technical manual*. 13th ed. Bethesda (MD): AABB; 1999.
11. Moreira Júnior G, Bordin JO, Kuroda A, Kerbauy J. Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease: the influence of racial and antigenic pattern differences between donors and recipients in Brazil. *Am J Hematol*. 1996;52(3):197-200.
12. Murao M, Viana MB. Risk factors for alloimmunization by patients with sickle cell disease. *Braz J Med Biol Res*. 2005;38(5):675-82.
13. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. *Blood transfusion in clinical medicine*. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1997.
14. King KE, Shirey RS. Transfusion management of patients with sickle cell disease: the continuing dilemma. *Transfusion*. 2010;50(1):2-4.
15. Zimring JC, Hair GA, Deshpande SS, Horan JT. Immunization to minor histocompatibility antigens on transfused RBCs through crosspriming into recipient MHC class I pathways. *Blood*. 2006;107(1):187-9.
16. Kozarski TB, Howanitz PJ, Howanitz JH, Lilić N, Chauhan YS. Blood transfusions leading to apparent hemoglobin C, S, and O-Arab hemoglobinopathies. *Arch Pathol Lab Med*. 2006;130(12):1830-3.
17. Novaretti MCZ, Dorlhac-Llacer PE, Chamone DAF. Estudo de grupos sanguíneos em doadores de sangue caucasoides e negroides na cidade de São Paulo. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2000;22(1):23-32.