

Frequência do sistema Rh e Kell nos doadores do hemocentro de Santa Maria — RS

Adriana Najai Bortolotto*, Márcia M. Mikalauscas**, Anelise L.
Murari***, Samara Rubin****, José Edson Paz da Silva*****

RESUMO: O trabalho teve como objetivo avaliar a frequência dos fenótipos do sistema Rh e Kell em doadores do Hemocentro de Santa Maria. A frequência destes sistemas depende da etnia de cada região. Os principais antígenos do sistema Rh incluem: D, C/c/Cw e E/e. Das 1832 amostras fenotipadas, quanto ao sistema Rh, 870 amostras (48 %) foram fenotipadas como Rh positivo e 962 amostras (52,0 %) fenotipadas como Rh negativo. A frequência dos antígenos encontrados foi: cc 59,20 %; Cc 27,67 %; CC 12,55 %; Cw 0,87 %; ee 83,62 %; Ee 15,30 %; EE 1,08 % e 7,36 % Kell positivo. Das fenotipadas como Rh negativo, 78 amostras (8,1 %) foram positivas para o antígeno “C” e/ou “E” e 8,2 % Kell positivo. Uma vez que, estes antígenos são capazes de causar Doença Hemolítica Grave e Aloimunizações é necessária a pesquisa destes no doador Rh negativo

Descritores: Doadores de Sangue, Sistema do Grupo Sanguíneo de Kell, Sistema do Grupo Sanguíneo Rh-Hr.

Frequency of Rh and Kell system in blood donors of blood center in Santa Maria — RS

ABSTRACT: The study was aimed at evaluating the frequency of Rh and Kell system phenotypes in donors at the Blood Center of Santa Maria. Frequency of such systems depends on each regions ethnicity. The main antigens of the Rh system include: D, C/c/Cw and E/e. From the 1832 phenotyped samples, regarding the Rh system, 870 (48%) were Rh positive and 962 (52%) were Rh negative. Frequency of the antigens was: cc 59.20%; Cc 27.67%; CC 12.55%; Cw 0.87%; ee 83.62%; Ee 15.30%; EE 1.08%; and 7.36% kell positive. From the samples phenotyped as Rh negative, 78 (8.1%) were positive for the “C” and/or “E” antigen and 8.2% were kell positive. Since these antigens may cause Severe hemolytic disease and Alloimmunization, it is required to search for them in the Rh negative donors.

Descriptors: Blood Donors, Kell Blood-Group System, Rh-Hr Blood-Group System.

*Especializada em Análises Clínicas e Toxicológicas pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil. Técnica de Laboratório na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

**Especializada em Laboratório pela Clínica pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

***Mestranda em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil. Funcionária do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), Santa Maria, RS, Brasil.

****Graduada em Farmácia pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil. Estagiária Voluntária no Laboratório Oswaldo Cruz no setor de Imunologia em Santa Maria, RS, Brasil.

*****Doutor em Farmácia (Análises Clínicas) pela Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil. Professor e orientador do Programa de Mestrado e de Doutorado em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

Introdução

Os sistemas de grupos sanguíneos são caracterizados pela presença de antígenos eritrocitários, com características funcionais e polimórficas definidas.¹

Conforme Beiguelman² (2006), a frequência do sistema Rh e Kell varia entre as diversas populações no mundo, pois dependem da etnia de cada região. O conhecimento da frequência fenotípica dos vários grupos sanguíneos é essencial para estimar a disponibilidade de sangue compatível para pacientes que apresentem anticorpos anti-eritrocitários, segundo Novaretti et al.³ (2000)

O sistema Rh é o maior e mais complexo sistema de grupos sanguíneos, compreendendo atualmente 49 antígenos. E também o sistema com maior grau de polimorfismo entre os marcadores conhecidos da membrana eritrocitária.^{4,5}

Segundo Castilho⁶ (2007) os antígenos Rh são codificados por dois genes, altamente homólogos, localizados no braço curto do cromossomo 1: o gene RHD, produzindo o antígeno D e o gene RHCE, produzindo dois pares de antígenos antitéticos, C/c e E/e. A proximidade entre os genes RHD e RHCE facilita a ocorrência de conversão gênica durante os rearranjos gênicos entre eles, levando, assim, à formação de híbridos (partes do gene RHD em RHCE e vice-versa), responsáveis por algumas variantes do antígeno Rh D.

Os principais antígenos do sistema Rh incluem: D, C/c/Cw e E/e, sendo, o antígeno Rh D considerado o mais imunogênico, seguido dos antígenos c, E, C, e.^{6,7,8}

Segundo Fischer e Race citado por Harmening⁷ a frequência genética com que os antígenos do sistema Rh encontra-se descrita no quadro 1.

Quadro 1— Frequência dos antígenos do Sistema Rh

ANTÍGENOS	FREQUÊNCIA (%)
D	85
C	70
E	30
d	15
c	80
e	98

Fonte: Harmening 2006⁷

Os antígenos Rh são polipeptídeos transmembranares. Os produtos genéticos de RHD e RHCE são notavelmente similares porque ambos codificam para proteínas compostas por 417 aminoácidos que atravessam a membrana celular 12 vezes e porque diferem apenas no par de bases 44, segundo Harmening. Os produtos genéticos de RHCE, RHcE, RHcE, RHcE são ainda mais similares.⁷

Os antígenos “C” e “c” diferem entre si em quatro posições de aminoácidos, e um aminoácido distingue os antígenos “E” e “e”. Somente pequenas alças de proteínas Rh estão expostas na superfície da hemácia e conferem os pré-requisitos conformacionais para as diferenças sorológicas observadas entre os tipos de sangue Rh.⁷

O antígeno D (presente em indivíduos Rh positivo) difere da proteína CcEe em 35 aminoácidos, fato que o torna imunogênico para os indivíduos que não o possuem. Isto pode explicar porquê o sistema Rh frequentemente induz uma resposta imune muito forte.⁹

Os antígenos Rh são exclusivamente eritrocitários, não são encontrados em leucócitos ou plaquetas e surgem precocemente em torno da décima semana de vida intra-uterina.⁸

O antígeno Rh D é o mais importante do sistema Rh devido ao seu envolvimento na Doença Hemolítica Perinatal e nas Reações Hemolíticas Auto- imunes.^{6,8}

A presença ou ausência do antígeno Rh D nas hemácias determina o fenótipo conhecido. Portanto, o indivíduo considerado Rh positivo possui os dois genes (RHD e RHCE), enquanto no indivíduo Rh negativo, quase em sua totalidade, o gene RHD está deletado.⁴ Segundo Girello e Kuhn⁸ (2007), em torno de 85 % da população mundial e constituída de indivíduos Rh positivos e aproximadamente 55 % destes indivíduos Rh D positivo são heterozigotos em seu locus Rh D.¹⁰

O antígeno Cw é produzido por um gene variante de RHCE. Não se trata de um antígeno "C" fraco, mas de um novo antígeno que pode estar presente independentemente dos fenótipos C/c. É um antígeno de baixa frequência, estimada em menos de 2% em brancos e muito raro em negros.^{4,7,8} Este antígeno foi descoberto em 1946, por Callender e Race, em um paciente de genótipo Cde/CDe, que tinha recebido varias transfusões. Demonstrou-se, posteriormente, que este antígeno, encontrado em indivíduos Rh (D) positivo, estava ligado ao fator C(rh'), sendo um terceiro alelo da série C-c ao qual seus descobridores denominaram Cw, sendo o símbolo W a inicial do doador (Willis), cujos glóbulos continham o referido antígeno que estimularam a formação do anticorpo anti-Cw.¹¹

De acordo com Harmening⁷ (2006) o sistema de grupo sanguíneo Kell é uma interessante mescla de antígenos de frequências altas e baixas. O antígeno K1 (Kell) está presente em apenas uma pequena parte da população, enquanto o antígeno k (cellano) está presente em 99 %, sendo considerado um antígeno de alta frequência. Os 24 antígenos conhecidos fazem do sistema de grupo sanguíneo Kell o terceiro sistema de antígenos eritrocitários mais polimórficos.¹² Sendo que estão bem desenvolvidos ao nascimento e são expressos, principalmente, na superfície da membrana dos eritrócitos e também, em órgãos linfóides, cérebro, coração e músculo esquelético, entre outros.^{4,12}

Conforme Beiguelman² 2003, o antígeno K (Kell, K1) foi o primeiro a ser descrito (1946) seguido do antígeno k (Cellano, K2) três anos mais tarde. Com o emprego do anti-soro anti-K foi constatado que cerca de 9 % dos indivíduos caucasóides possuem o antígeno Kell, porcentagem menor em negros de 1 a 3 %, e nas populações do extremo oriente e praticamente nula. Os anticorpos do sistema Kell podem causar Doença Hemolítica Neonatal. A presença do anticorpo anti-Kell no feto e posteriormente no recém-nascido, pode levá-lo à anemia grave devido ao efeito inibitório da eritropoiese, independente da concentração do anticorpo.^{2, 8}

A fenotipagem sanguínea é a determinação da presença ou ausência de antígenos eritrocitários na membrana da hemácia. Atualmente, a hemoterapia, no Brasil e no mundo, tem se caracterizado pelo desenvolvimento e adoção de novas tecnologias, como a fenotipagem eritrocitária, com o objetivo de minimizar os riscos transfusionais, tornando-se uma prática mais segura.¹³

Neste trabalho foi avaliada a frequência dos antígenos do grupo sanguíneo Rh (D,C,Cw,c,E,e) e do antígeno K1 do sistema Kell em uma amostra de doadores de sangue

da cidade de Santa Maria – RS. Com a perspectiva de conhecer a população em foco, uma vez que pouco se conhece a respeito da mesma. A não detecção destes antígenos em doadores de sangue pode causar aloimunizações nos receptores, que receberem hemácias com fenótipos diferentes.

Metodologia

Foram analisadas amostras de 1832 doadores, de um total de 7281, no período entre setembro de 2009 e setembro de 2010, no Hemocentro Regional de Santa Maria. Foram incluídos todos os doadores Rh negativos e alguns positivos, residentes na cidade de Santa Maria/RS, Brasil.

As amostras foram testadas para a determinação da fenotipagem dos principais antígenos eritrocitários dos sistemas Rh (D,C,Cw,c,E,e) e Kell (K1), através da metodologia de aglutinação em coluna gel teste (Diamed Ag, Morat, Switzerland) utilizando cartões com anticorpos policlonais^{14,15}.

Para o teste foi preparada uma suspensão de hemácias a 5 % em bromelina. Incubada por dez minutos à temperatura ambiente. O cartão utilizado foi o cartão Rh-subgrupo + Cw + K contendo anticorpos anti-C, anti-Cw, anti-c, anti-E, anti-K e anti-e de origem humana, suspenso em gel. Foi pipetado 10 µl da suspensão nos microtubos. A seguir, os cartões foram centrifugados a 910 rpm por dez minutos. A leitura das reações foi realizada em função dos padrões de aglutinação em gel teste.

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, da Universidade Federal de Santa Maria (CONEP/MS - 23081.013622/2008-14). e o CAAE (Certificado de apresentação para Apreciação Ética): 0183.0.243 .000-08.

Resultados e discussão

Quando analisados para o sistema Rh, os 1832 doadores foram fenotipados para os antígenos C, C^w, c, E, e foram encontrados 23 (12,55 %) CC; 507 (27,67 %) Cc; 1090 (59,20 %) cc (Tabela 1); 20 (1,08 %) EE; 280 (15,30 %) Ee; 1532 (83,62 %) ee (Tabela 2); e 16 (0,87 %) C^w (Tabela 3).

Tabela 1 — Freqüência dos antígenos C e c

Fenótipo	Antígeno	Quantidade	Percentual
CC	C+ c-	230	12,55%
Cc	C+ c+	507	27,67%
cc	C- c+	1090	59,20%

Tabela 2 — Frequência dos antígenos E, e

Fenótipo	Antígenos	Quantidade	Percentual
EE	E+ e-	20	1,08%
Ee	E+ e+	280	15,30%
ee	E- e+	1532	83,62%

Tabela 3 — Frequência do antígeno C^w

Antígeno	Quantidade	Percentual
C ^w +	16	0,87%
C ^w -	1816	99,13%

Quanto ao sistema Rh, das 1832 amostras fenotipadas, 962 amostras (52 %) demonstraram-se como Rh negativo e 870 (48 %) doadores Rh positivo. Das amostras consideradas como Rh negativo, 78 (8,1 %) foram positivas para o antígeno “C” e/ou “E” (Figura 1). Nestes resultados observamos que o fenótipo para doador Rh negativo desejado, ou seja, dccee, sofreu uma alteração com a presença dos antígenos “C” e “E” sendo este resultado de grande importância clínica transfusional.

A frequência encontrada do antígeno C^w, na Tabela 3, esta dentro dos valores encontrados na literatura estimada em menos de 2% em brancos.⁴

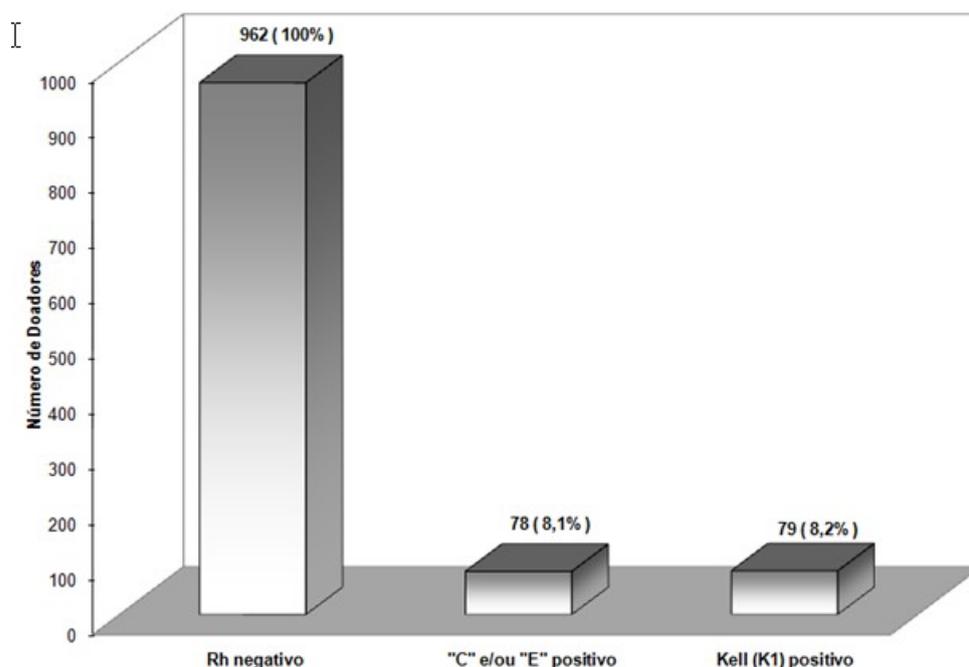


Figura 1 — Total de doadores Rh negativo com “C” e/ou “E” e (K1) Kell positivo

Na Tabela 4, encontramos os resultados referentes ao sistema Kell, onde do total de doadores fenotipados 135 (7,36 %) são Kell positivos e 1697 (92,63 %) são Kell negativos.

Tabela 4 — Freqüência do antígeno Kell (K1)

Antígeno	Quantidade	Percentual
Kell +	135	7,36%
Kell -	1697	92,63%

Em relação ao sistema Kell, a fenotipagem foi realizada apenas para K1. O número de doadores Kell positivo esta dentro do esperado e semelhante ao descrito por Beiguelman² (2003) e Harmening⁵ (2006). Porém ao relacionar ao sistema Rh encontramos um alto percentual deste antígeno (8,2 %) em doadores Rh negativo.⁴ A região é colonizada por descendentes italianos e alemães, caracterizando uma população predominante caucasóide.¹⁶

O doador sendo Rh D negativo ao apresentar os antígenos E, C ou K, em suas hemácias, seu sangue deve ser utilizado somente em pessoas que também possuam o mesmo fenótipo devido ao poder imunogênico e envolvimento com a Doença Hemolítica do Recém-Nascido, pois podem sensibilizar pessoas com fenótipos diferentes.¹⁷

Considerações finais

Este trabalho demonstra a importância da fenotipagem para os antígenos D, C, c, E, e, K, devido ao seu poder imunogênico e para conhecer a frequência destes antígenos na população.

O doador Rh negativo deve ser analisado para os demais antígenos do sistema que, mesmo sendo menos imunogênicos, quando presentes, são capazes de causar DHRN e sensibilizar os receptores que não os possuem.

O doador sendo Rh D negativo ao apresentar os antígenos E, C ou K, em suas hemácias deve possuir um protocolo de conduta diferenciada para estes fenótipos conforme a legislação, devido ao poder imunogênico e envolvimento com a Doença Hemolítica do Recém-Nascido podendo sensibilizar pessoas com fenótipos diferentes.¹⁷ Assim como observamos a necessidade da análise conjunta destes sistemas. Este estudo, demonstra a necessidade da introdução da fenotipagem eritrocitária em todos os doadores, de forma gradativa e em todos os bancos de sangue pois esse procedimento reduziria o índice de aloimunizações e aumentaria a segurança transfusional, como também reduziria custos para as instituições.

Referências

1. Story JR, Castilho L, Daniels G, Flegel WA, Garraty G, Francis CL et al. International Society of Blood Transfusion Working Party on red cell immunogenetics and blood group terminology: Berlin report. *Vox Sang.* 2011; 101 (1): 77-82.
2. Beiguelman B. Os Sistemas Sanguíneos Eritrocitários. 3ª ed. Ribeirão Preto (SP): FUNPEC; 2003.
3. Novaretti MCZ, Dorlha CLPE, Chamone DAF. Estudo de grupos sanguíneos em doadores de sangue caucasóides e negróides na cidade de São Paulo. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2000, 22(1):23-32.

4. Girello AL; Kuhn TIBB. - Fundamentos da imuno-hematologia eritrocitária. São Paulo: Senac; 2002.
5. Flegel, W.A. The genetics of the Rhesus blood group system. *Blood Transfusion*, v.5, p. 50-7, 2007
6. Castilho L. Sistema de grupo sanguíneo Rh. In: Bordin JO, Langhi JR DM, Covas DT (Eds.). *Hemoterapia fundamentos e práticas*. São Paulo: Atheneu; 2007. 137-146.
7. Harmening DM - *Técnicas Modernas em Bancos de Sangue e Transfusão*. 4º ed. Rio de Janeiro:Revinter; 2006.
8. Girello, A.L.; Kuhn, T.I.B.B. *Fundamentos da imuno-hematologia eritrocitária*. São Paulo: Senac, 2007
9. Westhoff CM. Review: the Rh blood group D antigen dominant, diverse, and difficult. *Immunohematology*. 2005; 21:155-163.
10. Moise KJ Jr. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2002;100(3):600-11.
11. Lima AO, Soares JB, Greco JB, Galizzi J, Cançado JR. *Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica* 8º.ed. Rio de Janeiro:Guanabara; 2001.
12. Bordin JO, Junior DML, Covas DT. *Hemoterapia fundamentos e Práticas*. São Paulo: Atheneu; 2007.
13. Castilho, L. Sistema Rh. In: SIMPÓSIO HEMOPASSO, 2008. Passo Fundo. Anais ... Passo Fundo: Hemocentro Regional, 2008. Disponível em: <www.pmpf.rs.gov.br/servicos/geral/files/portal/sgs.ppt>. Acesso 2m 16 dez. 2010.
14. DIAMED. Disponível em: <http://www.diamed.com.br/Cmi/Pagina.aspx?379>. Acesso em: dez. 2010.
15. TECHNICAL MANUAL OF AABB (USA): Bethesda, Maryland, 1993.
16. IBGE. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoodevida/indicadoresminimos/tabela1.shtm#a112>. Acesso em: jun. 2011.
17. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1.353, de 13 de junho de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos Hemoterápicos. Diário Oficial da União, Brasília, 14 de junho de 2011.

José Edson Paz da Silva

Endereço para correspondência — Av. Roraima nº 1000, Prédio 26 - sala 1332

Campus - Universidade Federal de Santa Maria

Santa Maria - RS

CEP 97105-900

E-mail: jepazdasilva@gmail.com

Currículo lattes: <http://lattes.cnpq.br/1177504021154172>

Recebido em 10 de agosto de 2011.

Aprovado em 18 de novembro de 2011.