

## Resumo de Tese

**Estudo da significância clínica de aloanticorpos eritrocitários em pacientes com anemia falciforme*****Alloantibodies in patients with sickle cell anemia***

Antonio Fabron

**Orientador:**

José O. Bordin

**Coordenador:**

Jose Kerbauy

**Resumo**

Embora as transfusões de CH sejam importantes para pacientes com anemia falciforme, elas acarretam riscos imunológicos tais como a aloimunização a antígenos eritrocitários. Nesse contexto, tem sido descrito que a aloimunização eritrocitária ocorre em cerca de 20% dos pacientes com anemia falciforme, e que os principais aloanticorpos são dirigidos contra antígenos dos sistemas Rhesus, Kell, Duffy e Kidd.

No presente estudo, utilizando testes imuno-hematológicos em tubo e por gel centrifugação, avaliamos 125 pacientes (64 homens, 61 mulheres, com idade mediana de 35,5 anos) com anemia falciforme, e encontramos uma prevalência de aloanticorpos eritrocitários de 20,8%. Aproximadamente 70% dos aloanticorpos eram relacionados aos antígenos do sistema Rh. Além disso, foi verificado que a técnica em gel foi significativamente mais sensível que a técnica em tubo (26 vs 20;  $p < 0,05$ ).

Através dos testes da monocamada de monócitos (MMA) e por quimioluminescência (QL) para a análise da eritrofagocitose *in vitro*, utilizando monócitos autólogos, soro fresco e hemácias heterozigotas para o antígeno relacionado, encontramos uma positividade de 41,2% para o MMA e 52,9% para QL. Entre os aloanticorpos

verificamos que 18/34 (52,9%) mostraram ter significância clínica. Em 14 deles houve concordância entre os dois testes, quatro mostraram significância apenas pelo teste de QL, e os restantes 16/34 (47,1%) não apresentaram significância clínica. Os resultados encontrados revelaram uma boa concordância entre os dois testes (Kappa = 0,767;  $p < 0,05$ ).

Os testes MMA e QL aplicados com soros de gestantes que tiveram recém-nascidos gravemente acometidos ou não pela DHRN. O encontro de 100% de concordância entre a gravidade da DHRN e a significância clínica dos aloanticorpos envolvidos avaliada pelo MMA e pela QL permitiu a validação dos resultados observados com os pacientes com anemia falciforme.

O estudo do polimorfismo do gene *FcgRIIA* com PCR com iniciadores alelo específicos em 17 pacientes com anemia falciforme revelou que 10 (58,8%) pacientes expressavam o alelo *FcgRIIA-H131*, e que 7 (41,2%) eram homozigotos para *FcgRIIA-R131*. Dos 12 aloanticorpos presentes nos pacientes homozigotos para o alelo *FcgRIIA-R131*, 5 mostraram ter significância clínica pelo MMA e 10 por QL.

Em conclusão, o presente estudo revelou que: (1) a prevalência de aloimunização eritrocitária em pacientes falciformes foi de 20,8%; (2) aproximadamente 70% dos aloanticorpos observados

eram relacionados ao sistema Rhesus; (3) a técnica por gel detectou um número significativamente maior de aloanticorpos do que a técnica em tubo; (4) os testes MMA e QL sugeriram significância clínica para 41,2% e 52,9% dos aloanticorpos avaliados, respectivamente; (5) os resultados dos testes MMA e QL mostraram boa concordância, mas o teste por QL parece ser mais sensível para caracterizar eritrofagocitose *in vitro* especialmente se aos aloanticorpos forem relacionados ao sistema Rh; e (6) pacientes portadores do alelo *FcgRIIA-H131* não apresentam maior capacidade de fagocitose de hemáceas sensibilizadas que portadores do alelo *FcgRIIA-R131*.

### Abstract

*Red blood cell (RBC) transfusion is an important part of the management of patients with sickle cell anemia (SCA). However, repeated RBC transfusions are often complicated by RCB alloimmunization. The rate of RBC alloimmunization in SCA patients has been reported to be about 20%. In addition, the majority of RBC alloantibodies found in patients with SCA has shown to be related to the Rh, Kell, Duffy and Kidd, systems.*

*In this study, we evaluated RBC alloantibodies by the conventional tube spin indirect antiglobulin test (in PEG, LISS and enzyme) and by the gel test (in LISS and enzyme) in 125 patients with SCA (64 male; 61 female, median age = 35.5 years). An aloimmunization prevalence rate of 20.8% (26/125) was found, and about 70% of the RBC alloantibodies showed anti-Rh specificities. The gel system centrifugation technique detected a significant higher number of alloantibodies compared to the tube test (26 vs. 25,  $p < 0.05$ ).*

*Using the MMA and CLT, with autologous monocytes, fresh sera and RBC heterozygous for each antibody specificity, we found 41.2% and 52.9% positive MMA and CLT results, respectively.*

*Eighteen of 34 (52.9%) evaluated RBC alloantibodies showed clinical significance. Of these, 14 (41.2%) RBC alloantibodies had a positive test in agreement by both MMA and CLT; and 4 RBC alloantibodies were reactive by CLT, but not by MMA. Sixteen (47.1%) RBC alloantibodies showed no clinical significance. Our data showed a good agreement rate between MMA and CLT ( $Kappa = 0.767$ ;  $p < 0.05$ ).*

*To validate our results we performed the MMA and CLT using sera from pregnant women who delivered newborns with or without hemolytic disease of the newborn. Since the results showed 100% of agreement between the two tests we considered that our findings had been validated.*

*Using PCR with allele-specific primer method, we determined the polymorphisms of *FcgRIIA* in 17 patients with SCA. Ten (58.8%) patients expressed the allele *FcgRIIA-H131*, while 7 (41.2%) were homozygous for the allele *FcgRIIA-R131*. In addition, we observed that out of 12 RBC alloantibodies detected in patients with the *FcgRIIA-R/R131* genotype, 5 showed clinical significance by the MMA and 10 by CLT.*

*In conclusion, this study showed that: (1) the prevalence rate of clinically significant RBC alloantibodies in SCA patients was 20.8%; (2) about 70% of these RBC alloantibodies were related to the Rh system; (3) the phagocytic studies with the MMA and CLT suggested clinical significance for 41.2% and 52.9% of the 34 evaluated RBC alloantibodies, respectively; (4) the MMA and CLT results showed a good agreement rate however, the data suggests that the CLT might be more sensitive than the MMA as a test for predicting the clinical significance of RBC alloantibodies in patients with SCA, specially if the antibodies are related to the Rh system; and (5) SCA patients with the allele *FcgRIIA-H131* had no higher phagocytic capacity than homozygous patients for the allele *FcgRIIA-R131*.*

Recebido: 24/04/2001

Aceito: 30/05/2001