

Revisão / Review

Sistema de grupo sanguíneo Duffy: Biologia e prática transfusional

Duffy blood group system: Biology and transfusion practice

Eduardo Jens¹Thiago Pagliarini¹Marcia C. Z. Novaretti²

Após a introdução da técnica de antiglobulina indireta por Coombs em meados da década de 40, vários anticorpos antieritrocitários foram descobertos. O grupo sanguíneo Duffy foi descoberto quando Cutbush e Ikin detectaram, no início da década de 50, os primeiros anticorpos desse sistema. Os anticorpos Duffy são clinicamente significantes na prática transfusional, pois mostraram ser causadores de reação hemolítica transfusional e de doença hemolítica do recém-nascido, sendo de ocorrência mundial. O gene FY é constituído por dois exons e seu locus foi mapeado no cromossomo 1q22-q23. Os antígenos Fy^a e Fy^b são codificados pelos alelos FYA e FYB e são responsáveis pelos fenótipos Fy(a+b-), Fy(a-b+) e Fy(a+b+). São carreados por uma glicoproteína de 336 aminoácidos também chamada DARC (Duffy Antigen/Receptor for Chemokines), que tem alta afinidade a quimiocinas, sendo também os receptores para Plasmodium vivax. Os polimorfismos relacionados aos seus alelos permitiram o desenvolvimento da técnica de genotipagem por PCR, que é de grande utilidade para a segurança transfusional e incompatibilidade feto-materna. Na última década, inúmeras pesquisas têm sido feitas quanto ao papel biológico dos antígenos de grupos sanguíneos. Nesse artigo iremos revisar o sistema de grupo sanguíneo Duffy, em especial quanto à prática transfusional e suas funções biológicas. Rev. bras. hematol. hemoter. 2005;27(2):110-119.

Palavras-chave: Sistema de grupo sanguíneo Duffy; DARC; quimiocinas; malária; gene Duffy.

Introdução

Um dos mais notáveis avanços em pesquisa na área médica na primeira metade do século XX foi a identificação de antígenos eritrocitários e o reconhecimento de sua importância na prática transfusional e na doença hemolítica do recém nascido.^{1,2}

Mais recentemente, houve grandes progressos no entendimento e análise estrutural e funcional dos antígenos de grupos sanguíneos expressos tanto nas hemácias quanto

em tecidos não eritróides.³ Neste artigo iremos revisar o sistema grupo sanguíneo Duffy, que tem sido alvo de pesquisas, pelo particular interesse fisiológico e transfusional a ele relacionado, sendo considerado um dos mais interessantes loci cromossômicos para avaliar o impacto da pressão da seleção natural em diferentes regiões geográficas.^{4,5}

A descoberta do anti-Fy^a ocorreu em 1950, por Cutbush et al,⁶ que detectaram uma aglutinina no soro de um paciente hemofílico politransfundido ainda não reconhecida como antígeno de grupo sanguíneo. Esse anticorpo

¹Pós-graduando da Disciplina de Hematologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

²Professora colaboradora da Disciplina de Hematologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Chefe da Divisão de Imunematologia da Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo.

Divisão de Imunematologia da Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo/Disciplina de Hematologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Correspondência para: Marcia Cristina Zago Novaretti

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155 - 1º andar

05403-000 – São Paulo-SP – Brasil

Tel: 55 11 3088-2638; Fax.: 55 11 3083-2290

E-mail: marcitabrz@yahoo.com

foi chamado anti-Fy^a, em homenagem ao paciente em questão, Sr. Duffy, e reagia com 64,9% das 205 amostras de sangue testadas de indivíduos não aparentados na população inglesa.⁷

No ano seguinte, Ikin et al⁸ descreveram o anti-Fy^b, anticorpo que define o par antitético do antígeno Fy^a. Em 1955, Sanger et al⁹ observaram que o fenótipo Fy(a-b-) era o mais comum em afro-americanos e que provavelmente representava um produto de um alelo silencioso, *FY*.

Chown et al¹⁰ descreveram outro alelo no locus *DUFFY*, *FYX*, co-dominante com *FYA* e recessivo para *FYB*, correlacionado com a expressão fraca do antígeno Fy^b. O alelo *FYX* foi posteriormente descrito com mais detalhe por Lewis et al,¹¹ que demonstraram que o gene *FY* não produz um antígeno diferente dos outros do sistema Duffy, mas os eritrócitos reagem mais fracamente com soros anti-Fyb, podendo ser detectado por métodos de adsorção e eluição.

Os anti-soros anti-Fy^a e anti-Fy^b definem os fenótipos Fy(a+b-), Fy(a+b+), Fy(a-b+) e Fy(a-b-). Em 1971, o antígeno Fy3 foi descrito e os antígenos Fy4 e Fy5 foram reportados em 1973.^{12,13,14} Os anti-soros que definem os fenótipos Fy3 e Fy5 são muito raros e não existem comercialmente.

Em 1987, o primeiro anticorpo monoclonal murino anti-Fy6 foi obtido e definiu outro determinante antigênico Duffy (Fy6) presente em todas as células Duffy-positivo mas ausente em células Fy (a-b-). Esse epítipo se revelou importante pelos estudos de estrutura-função do sistema Duffy.¹⁵

Um dos aspectos interessantes dos antígenos Duffy é sua função de receptor de merozoítas de *Plasmodium vivax* e de *P. knowlesi*, que são respectivamente os agentes responsáveis por diferentes formas de malária no homem e no macaco. Essa função foi colocada em evidência por Miller et al,¹⁶ em 1975, mostrando a resistência dos eritrócitos Fy (a-b-) à invasão de merozoítas de *P. knowlesi* que eram cultiváveis *in vitro* naquela época. Em 1989, Barnwell et al¹⁷ confirmaram os mesmos experimentos com *P.vivax*.

A partir de 1989, os estudos referentes ao sistema Duffy tomaram um novo impulso. A purificação da proteína Duffy e a clonagem do cDNA permitiram a abordagem de estudos estruturais e funcionais.^{18,19} A homologia dessa proteína com os receptores de quimiocinas, peptídeos implicados na resposta inflamatória, nos levou ao estudo da função biológica do grupo sanguíneo Duffy.^{20,21}

Antígenos

Os antígenos Fy^a e Fy^b são codificados por duas formas alélicas do gene *FY*. Os alelos *FYA* e *FYB* diferem por uma simples substituição de base no nucleotídeo 125. No alelo *FYA*, a base é guanina (G) e no alelo *FYB* a base é adenina (A). Isso produz um códon para glicina no aminoácido 42 no alelo *FYA*, e um códon para ácido aspártico no alelo *FYB*. Essa substituição de um aminoácido no domínio amino-terminal da proteína é suficiente para definir os dois antígenos antitéticos.^{23,24,25} Essa variação leva à identificação dos fenótipos Fy(a+b-), Fy(a-b+) e Fy(a+b+).²⁶

Estudos com anticorpos monoclonais realizados por Wasniowska et al²⁷ mostraram que o sítio de maior imunogenicidade para os antígenos Fy^a/Fy^b está localizado entre os aminoácidos 37 e 47.

Tournamille et al,²⁸ estudando quatro amostras de doadores de plaquetas com fenótipo Fy(a+b+^{fraco}), descobriram que a alteração da expressão do alelo *FYB* é devida à mutação específica no nucleotídeo 265C>T do alelo *FYX*, responsável pela expressão muito baixa do fenótipo Fy^b. Essa substituição de base provoca uma mudança do aminoácido Arginina por uma Cisteína na posição 89 do gene *FY*.

Técnicas de adsorção e eluição são utilizadas para detectar a presença do fenótipo Fy^{b frac} mas nem sempre essas técnicas são eficazes.

Em um estudo com cinco amostras de indivíduos com fenótipo Fy(a+b+^{fraco}) e duas amostras Fy(a-b+^{fraco}) de indivíduos não aparentados, Olsson et al,²⁹ além da mutação 265C>T, observaram em todas as amostras pesquisadas a mutação 298G>A, também associada ao alelo *FYX*. Essa mutação provoca uma substituição de Alanina por Treonina no aminoácido 100 do gene *FY*.

Outros autores demonstraram sorologicamente que os antígenos Fy3 e Fy5 também têm suas expressões enfraquecidas em eritrócitos.^{30,31,32}

Castilho et al³³ descreveram um novo polimorfismo de um único nucleotídeo (SNP - *single nucleotide polymorphism*) 145 G>T no alelo *FYB*, que foi encontrado juntamente com os SNPs dos nucleotídeos 265 e 298, em dois doadores de sangue brasileiros não aparentados, um caucasiano e outro negro. Nesse estudo foi observado que, dos 361 doadores estudados, em 27 (7,5%) encontrou-se apenas a mutação 298 G>A, mas nenhum dos indivíduos estudados apresentou a mutação 265 C>T isoladamente.

O fenótipo Fy(a-b-) em negros mostrou ser devido a uma mutação pontual -33T>C na região promotora do gene *FYB*, o GATA-box.^{34,35} Essa alteração leva a uma interrupção no fator de transcrição eritróide GATA-1, resultando na ausência de expressão do antígeno Fy^b apenas no eritrócito, não alterando a expressão dessa proteína em outros tecidos. Conseqüentemente, esses indivíduos podem vir a desenvolver anti-Fy^a, mas não anti-Fy^b.³⁶

Terminologia da Sociedade Internacional de Transfusão Sanguínea (ISBT - International Society of Blood Transfusion)							
	Sistema		Antígenos				
	Duffy	Fy ^a	Fy ^b	Fy3	Fy4	Fy5	Fy6
Símbolo	FY	FY1	FY2	FY3	FY4	FY5	FY6
Número	FY	FY1	FY2	FY3	FY4	FY5	FY6

Castilho et al³³ observaram uma alta frequência da mutação -33T>C (12,5%) em indivíduos com ancestrais caucasianos, confirmando que na população brasileira não existe uma clara distinção de raças. Foi observada também a ocorrência simultânea das mutações -33T>C, 265 C>T e 298 G>A (1,7%) e a ocorrência das mutações 265 C>T e 298 G>A em indivíduos de descendência africana, o que difere de outros relatos na literatura que apresentaram a ocorrência das mutações 265 C>T e 298 G>A em 2-5% da população caucasiana mas não em negros.^{29,37,38}

O resultado de eventos naturais na região GATA-box para o alelo *FYA*^{multo} é interessante encontrado em regiões endêmicas do *Plasmodium vivax* na Nova Guiné³⁹ e, recentemente, na região amazônica.⁴⁰

Shimizu et al^{41,42} investigaram várias etnias de regiões da Tailândia e Indonésia, verificando a alta incidência do alelo *FYA* (>0,9) e a presença do novo fenótipo Fy(a^{fraco}b-), dados similares aos encontrados em estudos fenotípicos anteriores realizados na região do sudeste asiático e Oceania. Chama a atenção que os indivíduos Fy(a^{fraco}b-) apresentaram genotipagem *FYA/FYA* e os Fy(a-b-) apresentaram genotipagem *FYA/FYA* ou *FYA/FYB*, por PCR-RFLP utilizando as enzimas BanI e Sty, porém os mecanismos genéticos que causam esse fenótipo não foram determinados. As implicações da presença desses fenótipos encontrados ainda são desconhecidas, mas sugerem que, em regiões endêmicas de malária, também há mecanismos de defesa para a infecção do *P. vivax*, distintos dos encontrados em descendentes africanos.⁴²

Rios et al⁴⁴ relataram a análise de três caucasóides que apresentavam fenótipos Fy(a-b-) nos quais foram identificados anti-Fy3 em altos títulos.

No primeiro caso, a genotipagem apresentava-se *FYA/FYA* e as mutações 265C>T, 298G>A e -33T>C não foram encontradas, porém uma mutação pontual 287G>A foi observada, provocando a substituição de um nucleotídeo, acarretando um códon de término ("stop" códon). O segundo paciente apresentou genotipagem *FYB/FYB* e as mutações 265C>T, 298G>A e -33T>C não foram encontradas, mas a seqüência de nucleotídeos do exon 2 do gene *FY* mostrou uma mutação 407G>A que causa um códon de término prematuro no aminoácido de posição 136. O terceiro paciente, previamente estudado por Mallinson et al,²⁴ apresentava genótipo *FYA/FYA*. As mutações 265C>T, 298G>A e -33T>C não foram encontradas e a seqüência de nucleotídeos do exon 2 do *FY* mostrou uma mutação 408G>A que causa um códon de término prematuro no aminoácido de posição 136. Segundo os autores, essas mutações mostraram ser eventos espontâneos pois foram observadas no alelo *FYA* e no alelo *FYB*.

O antígeno Fy3 foi descrito por Albrey et al,¹² é resistente aos tratamentos com tripsina, DTT 0,2M, α -quimiotripsina, papaína, sialidase e pronase.⁴⁵ O epítipo conformacional Fy3 está localizado na terceira alça extracelular da glicoproteína Duffy, e seus determinantes antigênicos foram

demonstrados por ensaios com anticorpos monoclonais serem entre os aminoácidos 281 e 285.^{27,46}

Outros epítipos relativos à glicoproteína Duffy foram definidos por raros soros humanos, como os antígenos Fy4 e Fy5.^{27,46}

O antígeno Fy4 foi definido por Behzad et al¹³ em 1973, relatando um anticorpo que reagia somente com hemácias Fy(a-b-) de indivíduos com descendência africana. No mesmo ano, Colledge et al¹⁴ relataram o anti-Fy5, definindo o antígeno Fy5 como tendo uma possível interação com as proteínas Rh e Duffy. A raridade desses anticorpos impediu o progresso na caracterização dos epítipos correspondentes.

O antígeno Fy6, reconhecido por anticorpos monoclonais de classe IgG1 Kappa, foi mapeado na alça aminoterminal da proteína Duffy. É resistente a tratamentos com tripsina, DTT 0,2M e sialidase e sensível ao tratamento com papaína, α -quimiotripsina e pronase.^{15,47,48} Relacionado com a suscetibilidade à invasão do *P. vivax*, Fy6 está presente nas hemácias, com exceção das Fy(a-b-), numa frequência semelhante à do Fy3.¹⁵

Estudos com anticorpos monoclonais anti-Fy6 mostraram que a região imunodominante do epítipo linear Fy6 é o heptapeptídeo QLDFEDV na posição 19-25 da glicoproteína Duffy.

Utilizando técnica de citometria de fluxo, Woolley et al⁴⁹ descreveram que a expressão de antígenos Duffy era maior em reticulócitos do que em eritrócitos maduros. A avaliação da expressão dos antígenos Duffy nos reticulócitos pode ser de valia no entendimento de como essa expressão é modulada em respostas inflamatórias agudas como cirurgias ou sepsis.

Frequência

Em um estudo realizado por Novaretti et al⁵⁰ em doadores de sangue na cidade de São Paulo, a frequência fenotípica encontrada, para o sistema de grupo sanguíneo Duffy, foi de 19,8% em caucasóides e 14% em negros para o fenótipo Fy(a+b-). Quanto ao fenótipo Fy(a+b+), a casuística foi de 41,4% para caucasóides e 1,6% para negros. O fenótipo Fy(a-b+) observado foi de 37,8% para caucasóides e 17,5% para negros. Em caucasóides, a frequência do fenótipo Fy(a-b-) foi de 1,1%, enquanto para os negros foi de 66,9%, sendo esse fenótipo considerado um marcador de raça negra.

A grande diversidade de distribuição dos determinantes antigênicos Duffy, nos diversos grupos étnicos, é característica desse sistema de grupo sanguíneo.

Os determinantes antigênicos Fy^a são prevalentes entre chineses, japoneses e melanésios, porém apresenta baixa frequência entre negros africanos.^{41,42} No entanto, o antígeno Fy^b é mais abundante na população caucasóide do que em asiáticos e negros africanos e americanos e o fenótipo Fy(a-b-) é extremamente raro fora da população negra.^{16,51}

Sandler et al,⁵² investigando a origem da hemoglobina S em dois grupos nativos de sicilianos brancos, encontraram o fenótipo Fy(a-b-) em 11% de indivíduos não aparentados, mostrando que a hemoglobina S é somente um dos genes africanos múltiplos atuais em populações brancas contemporâneas.

Anticorpos

Os anticorpos anti-Fy^a e anti-Fy^b podem causar reações transfusionais hemolíticas imediatas e tardias e também podem levar à doença hemolítica do recém-nascido.⁵³

Anti-Fy^a e anti-Fy^b são predominantemente anticorpos de subclasse tipo IgG1. Em uma série de estudos, Szymanski et al⁵⁴ verificaram que a maioria dos anticorpos anti-Duffy era composta de IgG1, 18% eram IgG2 e 25% eram IgM.

O anti-Fy^a é mais freqüentemente produzido a partir de sensibilização por transfusão sanguínea que por gestação e não é de ocorrência natural. Sua freqüência é aproximadamente três vezes menor que o anti-K. Cerca de 50% dos anti-Fy^a ativam complemento acima do estágio C3.⁵⁵

Já o anti-Fy^b é cerca de vinte vezes menos comum que o anti-Fy^a e geralmente é encontrado em associação com outros anticorpos. Um exemplo de ocorrência natural de um potente anti-Fy^b foi descrito por Issit et al.⁵⁶ Também há relato de um caso de reação transfusional hemolítica devido à anti-Fy^b causado por resposta imune primária.⁵⁷

Os anticorpos Anti-Fy3 descrito por Albrey et al¹² e anti-Fy5 descrito por Colledge et al¹⁴ são anticorpos raros e reagem com todos os eritrócitos exceto em fenótipos Fy(a-b-). Esse último não reage também com eritrócitos Rh_{null}.⁵³

O anti-Fy3 pode causar reação transfusional hemolítica imediata e tardia e o anti-Fy5 pode causar reação transfusional hemolítica tardia e ambos não foram implicados em doença hemolítica do recém-nascido até o momento.⁵³

O único exemplo de anti-Fy4 descrito em 1973, por Behzad et al,¹³ reagia com todos os eritrócitos com fenótipo Fy(a-b-) de negros e com a maioria dos fenótipos Fy(a-b+) e Fy(a+b-) da mesma etnia. O anti-Fy4 não reagia com células Fy(a+b+) de negros nem com vários eritrócitos deste fenótipo em brancos.

Em 1982, Palatinik et al⁵⁸ descreveram o anticorpo anti-Fs, que reagia preferencialmente com células Fy(a-b-), em uma mulata brasileira com fenótipo Fy(a+b+) e foi outro caso de um único exemplar detectado. Em 1987, Nichols et al¹⁵ descreveram o primeiro anticorpo monoclonal, que definiu o novo epítipo Fy6 e foi produzido por imunização de rato com um conjunto de eritrócitos humanos.

Outros anticorpos anti-Fy6 monoclonais foram produzidos e usados como instrumentos que auxiliaram tanto no isolamento da proteína Duffy, quanto para a clonagem desse gene.^{19,27,59,60}

Para fins transfusionais é recomendado que, quando

anticorpos Duffy forem identificados em amostras de sangue de pacientes, ou ainda naqueles que, apesar de não mais os demonstrarem no soro tiverem histórico dos mesmos, seja selecionado sangue antígeno-negativo. Em casos de anti-Fy3 e anti-Fy5, deve-se selecionar sangue com fenótipo Fy(a-b-) e para esse último pode-se também selecionar sangue Rh_{null} para transfusão.⁵³

A importância do estudo por genotipagem de indivíduos com fenótipo Fy(a-b-) se faz necessária em pacientes com anemia falciforme ou cronicamente transfundidos, para melhor seleção de unidades de sangue a serem utilizadas, a fim de proporcionar otimização do uso de unidades Fy(a-b-).⁶¹

Doença hemolítica do recém-nascido

Tanto anti-Fy^a como anti-Fy^b podem causar doença hemolítica do recém-nascido (DHRN), geralmente não levam à morbidade significativa e não são freqüentes. Entretanto, há relatos em que foram necessárias transfusões intra-útero e ex-sanguíneo transfusão.⁶²⁻⁶⁶

Os antígenos Duffy foram detectados em eritrócitos de fetos entre 6 e 7 semanas de vida e estão bem desenvolvidos ao nascimento. Parece que a quantidade desses antígenos não varia durante a vida.^{56,57}

O primeiro caso descrito de transfusão intra-útero devido à incompatibilidade materno-fetal por anti-Fy^a foi descrito por Cook et al,⁶⁸ em 1984, mas, após o nascimento, esse recém-nascido não necessitou de transfusão de concentrado de hemácias, apresentando somente um teste de anti-globulina direto fracamente positivo. Em estudo realizado por Geifman-Holtzman et al,⁶⁹ em 452 mulheres em idade reprodutiva, encontraram anti-Fy^a em 5,4% e anti-Fy^b em 0,2%.

É possível a detecção de fetos em risco de desenvolver DHRN pela determinação do genótipo Duffy em líquido amniótico.⁷⁰

Gene

Historicamente, o gene Duffy foi o primeiro grupo sanguíneo cujo locus genético foi referido a um autossomo específico, o cromossomo 1, e está localizado próximo à região centromérica.⁷¹ Inicialmente o locus *FY* foi localizado na região 1q21-25 por análise de ligação.⁷²

Posteriormente, o cDNA correspondente ao mRNA da proteína Duffy foi clonado a partir uma biblioteca de medula óssea e seqüenciada¹⁹ e seu gene foi mapeado em 1q22-q23.⁷³

Acreditava-se que esse gene consistia de apenas 1 exon, revelando uma estrutura primária de um polipeptídeo altamente hidrofóbico, contendo uma seqüência nonapeptídica N-terminal (MASSGYVLQ) composta de 338 aminoácidos chamado de transcrito menor.^{23,74} Um longo estudo subsequente revelou a presença de um outro exon que contém seqüências codificadoras não traduzidas. Esse exon pode ser unido (após *splicing*) ao segundo exon (exon 2) para dar origem a

um transcrito de 336 aminoácidos, contendo uma seqüência de um heptapeptídeo N-terminal (MGNCLHR) chamado de transcrito maior.⁷⁵ Iwamoto, nesse estudo, determinou os níveis relativos da expressão dos 2 *FY* mRNAs distintos verificando uma predominância do transcrito maior nas células eritróides e em todos os órgãos estudados.

Desde a descoberta, em 1995, por Iwamoto et al,²⁵ que o gene *FY* é constituído de dois exons, os nucleotídeos são numerados utilizando o mRNA *spliced*; assim, o primeiro nucleotídeo do códon de iniciação da tradução (AUG) é o nucleotídeo nº1.⁷⁶ Numerando-se dessa forma, evitam-se as inconsistências criadas por diferentes tamanhos de 5'-UT aos diferentes sítios de iniciação da transcrição como descrito por Tournamille et al³⁴ e Iwamoto et al.⁷⁵ Em nível protéico, a Metionina é numerada como nº 1.

Estrutura da proteína

Moore et al⁷⁷ mostraram que, quando hemácias Fy (a+b-) com superfície radio-iodo marcadas eram incubadas com anti-Fy^a antes da solubilização em detergente, uma proteína de 35 a 43 kD era especificamente imunoprecipitada.

Hadley et al,⁷⁸ utilizando técnica de *immunoblotting* com um soro potente anti-Fy^a, identificaram uma proteína com aparente massa molecular de 35-43 kDa.

Nichols et al,¹⁵ utilizando o soro monoclonal murino anti-Fy6, observaram que este reage com uma proteína de banda larga de 36-46 kDa em *immunoblots* de proteínas de membrana eritrocitárias detergentes-solúveis.

Finalmente, um estudo por desialização da membrana do eritrócito por neuraminidase resultou numa alteração da mobilidade eletroforética da proteína Fy^a de 35 kD para 43 kD, sugerindo que a proteína Duffy é uma glicoproteína.⁷⁹

Chaudhuri et al¹⁸ mostraram que a proteína Duffy é N-glicosilada, e a variação do grau de N-glicosilação provavelmente contribui para a faixa de peso molecular de 35 a 45 kDa, também chamada de GPD (glicoproteína Duffy). Embora esse estudo tenha deduzido que a seqüência de aminoácidos dos antígenos Duffy era uma proteína de nove passagens transmembrânicas, Neote et al⁷⁴ mostraram a presença de sete hélices hidrofóbicas, sugerindo uma topologia na qual existem um domínio amino-terminal extracelular, três alças extracelulares, três alças citoplasmáticas e um domínio coboxi-terminal citoplasmático, demonstrando que a glicoproteína Duffy era uma proteína de sete passagens transmembrânicas. O domínio extracelular N-terminal da proteína Duffy compreende 60 aminoácidos, as três alças extracelulares compreendem os resíduos de aminoácidos 119-129, 189-206 e 267-288.

Utilizando soros humanos anti-Fy^a, anti-Fy^b e anti-IgG ferritina-marcada, Masouredis et al⁸⁰ estimaram que hemácias Fy(a+b-) e Fy(a-b+) carregam entre 13.000 e 14.000 sítios antigênicos Fy^a e Fy^b respectivamente. Como esperado, hemácias Fy(a+b+) têm a metade do número de sítios Fy^a que nas hemácias de fenótipo Fy(a+b-).

Expressão nos tecidos

A glicoproteína Duffy é expressa em diversos tecidos não eritróides como o rim, baço, coração, pulmão, músculo, duodeno, pâncreas, placenta, cérebro, intestino, glândula tireóide e em células de Purkinje do cerebelo.^{23,48,81}

As células responsáveis pela expressão de Duffy nesses tecidos são as células endoteliais que revestem as vênulas pós-capilares, exceto no cérebro, onde a expressão Duffy está localizada nas células de Purkinje.^{82,83,94}

Análise função-estrutura dos antígenos Duffy

A discussão sobre a função dos antígenos eritrocitários Duffy iniciou-se em 1975 quando Miller et al¹⁶ sugeriram que os determinantes antigênicos Fy^a ou Fy^b poderiam ser receptores para *Plasmodium knowlesi* e que a resistência à invasão do merozoíto em negros devia-se ao fenótipo Duffy negativo.⁸⁵

Para um melhor entendimento do envolvimento dos antígenos Duffy na fisiopatologia do *Plasmodium*, iremos brevemente discutir sobre o ciclo de vida da malária.

A malária é causada pelo protozoário do gênero *Plasmodium*, e as espécies que afetam o ser humano são o *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*. No caso brasileiro, destacam-se as três primeiras espécies. O plasmódio infecta alternadamente um hospedeiro vertebrado e invertebrado. O vetor é a fêmea do mosquito *Anopheles*.

A fêmea do *Anopheles* se alimenta com sangue infectado com gametócitos promovendo o processo de fertilização, produzindo zigoto que se transforma em uma forma invasiva que cresce e se divide, produzindo milhares de esporozoítas invasivos, migrando pelo corpo e invadindo as glândulas salivares. A fêmea, ao se alimentar, inocula os esporozoítas no sangue do homem, que migrarão rapidamente para os hepatócitos transformando-se em trofozoítas hepáticos onde amadurecem e dividem-se formando milhares de merozoítas. Os hepatócitos se rompem liberando os merozoítas na circulação, iniciando o ciclo eritrocítico. Essa parte do ciclo de vida não produz sintomas no hospedeiro. No ciclo eritrocitário, os merozoítas desenvolvem-se em trofozoítas formando os esquizontes. Estes, maduros, levam à ruptura da hemácia, que libera merozoítas capazes de reinfectar novas hemácias. Esse estágio do ciclo está associado com sintomas clínicos. Após um período de replicação assexuada, alguns merozoítas se diferenciam em gametócitos tornando-se infectantes aos mosquitos.⁸⁶

No Brasil, cabe ressaltar a elevada prevalência da malária, principalmente na região da Amazônia legal, que envolve os estados do Acre, Amazonas, Amapá, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Roraima, Rondônia e Tocantins. Foram registrados, no ano de 2002, 241.806 casos de malária, e, em 2003, 208.718 novos casos.

O mecanismo de entrada no eritrócito pelo *Plasmodium* foi estudado por Aikawa et al,⁸⁸ que observaram, por microscopia eletrônica, que a porção apical do merozoíto faz o contato inicial com o eritrócito, criando uma pequena depressão na membrana. Essa área começa a espessar e forma uma junção com a membrana do merozoíto. Então, o merozoíto entra na superfície do eritrócito por invaginação. Após a entrada completa do *Plasmodium*, o orifício de entrada fecha-se atrás dele. Essa junção tem importância crucial para a invasão do parasita.⁸⁹

As pesquisas sobre citocinas e seus receptores convergiram na investigação dos antígenos de grupo sanguíneo Duffy, mostrando uma importante função fisiológica para os alelos dessa glicoproteína.

As quimiocinas (citocinas com função de quimiotaxia) são parte de um grande membro da família de citocinas, estruturalmente homólogas. As quimiocinas são divididas em duas grandes subfamílias e se diferenciam por dois resíduos cisteína de aminoácidos terminais que participam na ligação dissulfeto. Podem estar adjacentes (quimiocinas C-C) ou separados por um aminoácido (quimiocinas C-X-C). As quimiocinas dessas subfamílias são produzidas por leucócitos e por vários tipos de células teciduais como as endoteliais, epiteliais e fibroblastos.^{20,90}

Na inflamação aguda, as quimiocinas C-X-C atuam principalmente sobre os neutrófilos, e, na inflamação crônica, as quimiocinas C-C atuam principalmente sobre monócitos, linfócitos e eosinófilos.⁹¹

Cada quimiocina tem um receptor específico no qual se liga com alta afinidade. Em 1991, Darbonne et al⁹² descobriram um novo receptor de quimiocinas nos eritrócitos. Revisando a topografia dos receptores de quimiocinas e analisando o repertório conhecido de ligantes para essa nova descoberta, verificaram que esse novo receptor eritróide era um ligante da família C-X-C com alta afinidade para MGSA e, principalmente, para Interleucina-8 (IL-8), e C-C com alta afinidade para MCP-1 (Proteína Quimotática de Monócito), MIP-1 (Proteína Inflamatória de Macrófago 1) e RANTES (Células Expressas e Secretadas Reguladas na Ativação).^{21,93,94}

Horuk et al⁹⁵ mostraram, em um estudo sobre receptores de quimiocinas multiespecíficos em eritrócitos humanos, que a IL-8 liga-se minimamente a eritrócitos Duffy negativos, que anticorpos monoclonais para antígenos Duffy bloqueavam a ligação de IL-8 em eritrócitos Duffy positivo, e que a IL-8 também impedia a ligação e a invasão por *P. knowlesi* em hemácias, levando a diversas linhas de evidências, indicando que os antígenos de grupo sanguíneo Duffy são receptores de quimiocinas.

Outros estudos estabeleceram a relação entre receptores de quimiocinas nos eritrócitos humanos e antígenos Duffy, por alinhamento da seqüência da proteína Duffy com outros membros da família de quimiocinas.

Foi visto também que a organização dos dois exons *FY* é a mesma encontrada nos genes de outros receptores de

quimiocinas. A partir de então, os antígenos eritrocitários Duffy foram denominados DARC (Duffy Antigen Receptor Chemokines).^{74,96,97}

A IL-8 é o ligante do DARC eritróide mais intensivamente estudado, é de baixo peso molecular, com aproximadamente 8kDa, e é produzida pela maioria das células do organismo, particularmente por macrófagos e células endoteliais, sendo envolvida na migração celular. A IL-8 é conhecida por ser um potente indutor de quimiotaxia para neutrófilos.⁹⁸ Após sua introdução na circulação, a IL-8 é rápida e eficientemente ligada ao DARC eritróide, ficando incapaz de ativar neutrófilos e, desse modo, o DARC eritróide pode funcionar como "escoadouro" para a IL-8 lançada na circulação.^{99,100}

Assim, a absorção de IL-8 nos eritrócitos pelo DARC pode funcionar como uma limitante da estimulação de leucócitos pela diminuição da IL-8 sanguínea.⁹²

A ausência do DARC eritróide em indivíduos Duffy negativo consequentemente reduz a capacidade de ligação da IL-8 aos eritrócitos.⁹⁵

O significado biológico do DARC nos eritrócitos inicialmente pareceu questionável, devido à falta de associação entre doenças e fenótipo Duffy negativo.⁷⁶ Porém, a relação função-estrutura e a localização do DARC na fisiologia normal e patológica ainda permanecem um campo vasto para novas descobertas.

A localização do DARC nas células endoteliais das vênulas pós-capilares aliada à sua capacidade de fixar as quimiocinas sugere que essa proteína pode ter um papel na cascata inflamatória, participando na formação do gradiente de quimiocinas que permite lançar os linfócitos na circulação para os sítios de inflamação.¹⁰¹ Estudos realizados por Middleton et al¹⁰² mostraram que o DARC estava implicado na transcitose e na apresentação de IL-8 produzidas pelas células epiteliais para a superfície luminal das células endoteliais das vênulas pós-capilares.

Recente artigo mostra que os antígenos Duffy facilitam a movimentação de quimiocinas através do endotélio *in vitro* e promove a transmigração de neutrófilos *in vivo* e *in vitro*.¹⁰³

A expressão aumentada do RNAm da proteína Duffy durante condições inflamatórias no rim sugere que uma das propriedades dos antígenos Duffy como ligantes de quimiocinas seletivos são biologicamente relevantes durante processos inflamatórios.^{104,105}

Seeger et al¹⁰⁶ observaram o aumento da expressão de DARC em pacientes que apresentavam rejeição celular e humoral de transplante renal associado à maior deposição da fração C4d em capilares peritubulares.

A diminuição da função renal após transplante está mais associada a pacientes com fenótipo Fy(a-b-), que pode ser devido a ausência de receptores DARC, que faz o papel de atenuar os efeitos inflamatórios, agindo como um escoadouro de quimiocinas.¹⁰⁷

Foi visto que a expressão dos antígenos Duffy estava aumentada nos leitos vasculares e nos alvéolos pulmonares

durante o quadro de pneumonia supurativa, sugerindo que os antígenos Duffy apresentavam um papel funcional no parênquima pulmonar durante o processo inflamatório.¹⁰⁸

Foi demonstrado também que os receptores DARC são receptores inflamatórios seletivos e não homeostáticos, fornecendo evidências que as quimiocinas ligantes ao antígeno Duffy são padrão em células endoteliais de tecidos inflamados e não em tecidos íntegros.¹⁰⁹

Um estudo realizado por Lachgar et al¹¹⁰ mostrou que o vírus HIV-1 se liga aos eritrócitos dos indivíduos caucasianos através do DARC, fazendo os eritrócitos capazes de transmitir o HIV às células mononucleares do sangue periférico, sugerindo que os eritrócitos podem funcionar como um reservatório para HIV-1 ou como um receptor para a entrada de HIV-1 em células CD4+ bem como em neurônios ou células endoteliais.

Além das patologias descritas anteriormente, outros artigos demonstram que os receptores DARC estão envolvidos na angiogênese do câncer e para isso iremos relatar brevemente os principais eventos relacionados a esse processo.

A angiogênese é essencial em diversos processos fisiológicos, como a embriogênese, reparação de ferimentos e ciclo menstrual, e processos patológicos, como o crescimento tumoral e metástase.

A angiogênese tumoral tem por característica a rápida resposta do sistema vascular ao aumento da necessidade metabólica do tecido tumoral, aumentando a microvascularização e o recrutamento de células endoteliais progenitoras circulantes, sendo esse processo muito controlado devido ao alto custo metabólico da angiogênese, ocorrendo somente quando for necessário. No caso do tumor, esse controle estrito é perdido, levando a uma angiogênese aberrante.^{111,112}

Em cada uma das etapas da angiogênese, os mecanismos exatos e os mediadores específicos que orquestram estes eventos permanecem interrogados. Entretanto, quimiocinas CXC, como a IL-8, demonstraram ter um papel crescente neste processo.^{111,113}

A incidência do câncer de próstata em afro-americanos é 60% maior do que aquela encontrada nos caucasianos, com uma taxa de mortalidade duas vezes mais elevada. Dada a importância das quimiocinas angiogênicas no desenvolvimento da rede vascular tumoral e o DARC ter propriedades ligantes com alta afinidade à IL-8, a possibilidade de homens afro-americanos com ausência do DARC eritróide pode ser considerado um fator de predisposição genético para maior incidência e mortalidade para o câncer de próstata.^{114,115}

Finalmente, pode-se dizer que, nos últimos dez anos, os progressos revelados pelas pesquisas conduzidas tanto no Brasil como internacionalmente tiveram forte impacto para melhor entendimento desse sistema de grupo sanguíneo, embora muito há que se desvendar, em especial quanto à função biológica dos antígenos do sistema Duffy.

Abstract

After the introduction of the indirect antiglobulin technique by Coombs in the middle of the 1940's, several antibodies have been discovered. Duffy blood group system came to light when Cutbush and Ikin detected the first antibodies related to this system in the beginning of the 1950's. The antibodies of this system are clinically significant in transfusional practice as they have been involved in hemolytic transfusion reactions and hemolytic disease of the newborn, showing them to be of worldwide occurrence. The FY gene is constituted of two exons and its locus was mapped on chromosome 1q22-q23. The Fy^a and Fy^b antigens are encoded by FYA and FYB alleles, and are responsible for the Fy(a+b-), Fy(a-b+) and Fy(a+b+) phenotypes. They are carried by a 336 amino acid glycoprotein called DARC (Duffy Antigen/Receptor for Chemokines) which has high affinity to chemokines, also being Plasmodium vivax receptors. The polymorphisms related to its alleles have led to the development of a PCR genotyping technique, which is useful for the safety of blood transfusion, and determining fetus-maternal incompatibilities. In the last decade, much research has been done to determine the biological role of blood group antigens. In this paper we reviewed the Duffy Blood Group System, especially in respect to transfusional practice and biological functions. Rev. bras. hematol. hemoter. 2005;27(2):110-119.

Key words: Duffy blood group system; DARC; chemokines; malaria; DUFFY gene.

Referências Bibliográficas

1. Landsteiner K. Individual differences in human blood. *Science* 1931;73:405.
2. Levine P, Burnham L, Katzin EM, Vogel P. Role of isoimmunization in pathogenesis of erythroblastosis fetalis. *Am J Obstet Gynecol* 1941;42:925.
3. Storry JR, Olsson ML. Genetic basis of blood group diversity. *Br J Haematol* 2004;126(6):759-71. Review.
4. Hamblin MT, Di Rienzo A. Detection of the signature of natural selection in humans: evidence from the Duffy blood group locus. *Am J Hum Genet* 2000;66(5):1669-79. Erratum in: *Am J Hum Genet* 2002;70(1):284.
5. Hamblin MT, Thompson EE, Di Rienzo A. Complex signatures of natural selection at the Duffy blood group locus. *Am J Hum Genet* 2002;70(2):369-83.
6. Cutbush M, Mollison PL, Parkin DM. A new human blood group. *Nature* 1950;165:88.
7. Cutbush M, Mollison PL. The Duffy blood group system. *Heredity* 1950;4:383-89.
8. Ikin EW, Mourant AE, Pettenkoffer HJ, Blumenthal G. Discovery of the excepted haemagglutinin anti-Fyb. *Nature* 1951;168:1.077.
9. Sanger R, Race RR, Jack J. The Duffy blood groups of New York negroes: the phenotype Fy (a-b-). *Br J Haematol* 1955;1(4):370-4.
10. Chown B, Lewis M, Kaita H. The Duffy blood group system in Caucasians: evidence for a new allele. *American Journal of Human Genetics* 1965;17:384-9.
11. Lewis M, Kaita H, Chown B. The Duffy blood group system in Caucasians. A further population sample. *Vox Sang* 1972;23:523-7.
12. Albrey JA, Vincent EE, Hutchinson J, et al. A new antibody, anti-Fy3, in the Duffy blood group system. *Vox Sang* 1971 Jan;20(1):29-35.
13. Behzad O, Lee CL, Gavin J, Marsh WL. A new anti-erythrocyte antibody in the Duffy system: anti-Fy4. *Vox Sang* 1973;24:337-42.

14. Colledge KI, Pezzulich M, Marsh WL. Anti-Fy5, and antibody disclosing a probable association between the Rhesus and Duffy blood group genes. *Vox Sang* 1973 Mar; 24(3):193-9.
15. Nichols ME, Rubinstein P, Barnwell J, et al. A new human Duffy blood group specificity defined by a murine monoclonal antibody. Immunogenetics and association with susceptibility to *Plasmodium vivax*. *J Exp Med* 1987 1;166(3):776-85.
16. Miller LH, Mason SJ, Dvorak JA, et al. Erythrocyte receptors for (*Plasmodium knowlesi*) malaria: Duffy blood group determinants. *Science* 1975;189:561-3
17. Barnwell JW, Nichols ME, Rubinstein P. In vitro evaluation of the role of the Duffy blood group in erythrocyte invasion by *Plasmodium vivax*. *J Exp Med* 1989 1;169(5):1795-802.
18. Chaudhuri A, Zbrzezna V, Johnson C, et al. Purification and characterization of an erythrocyte membrane protein complex carrying Duffy blood group antigenicity. Possible receptor for *Plasmodium vivax* and *Plasmodium knowlesi* malaria parasite. *J Biol Chem* 1989 15;264(23):13770-4.
19. Chaudhuri A, Polyakova J, Zbrzezna V, et al. Cloning of glycoprotein D cDNA, which encodes the major subunit of the Duffy blood group system and the receptor for the *Plasmodium vivax* malaria parasite. *Proc Natl Acad Sci* 1993 15;90(22):10793-7.
20. Rollins BJ. Chemokines. *Blood* 1997 1;90(3):909-28. Review.
21. Horuk R, Colby TJ, Darbonne WC, et al. The human erythrocyte inflammatory peptide (chemokine) receptor. Biochemical characterization, solubilization, and development of a binding assay for the soluble receptor. *Biochemistry* 1993 8;32(22):5733-78.
22. <http://www.iccbba.com/wpantigentables.htm> (acesso em 07. 01. 2005)
23. Chaudhuri A, Polyakova J, Zbrzezna V, Pogo AO. The coding sequence of Duffy blood group gene in humans and simians: restriction fragment length polymorphism, antibody and malarial parasite specificities, and expression in non-erythroid tissues in Duffy-negative individuals. *Blood* 1995;85:615-21.
24. Mallinson G, Soo KS, Schall TJ, et al. Mutations in the erythrocyte chemokine receptor (Duffy) gene: the molecular basis of the Fy^a/Fy^b antigens and identification of a deletion in the Duffy gene of an apparently healthy individual with the Fy(a-b-) phenotype. *Br J Haematol* 1995;90(4):823-9.
25. Iwamoto S, Omi T, Kajii E, Ikemoto S. Genomic organization of the glycoprotein D gene: Duffy blood group Fy^a/Fy^b alloantigen system is associated with a polymorphism at the 44-amino acid residue. *Blood* 1995 1;85(3):622-6.
26. Tournamille C, Le Van Kim C, Gane P, et al. Molecular basis and PCR-DNA typing of the Fya/Fyb blood group polymorphism. *Hum Genet* 1995;95:407-10.
27. Wasniowska K, Lisowska E, Halverson GR, et al. The Fy^a, Fy^b and Fy³ epitopes of the Duffy blood group system recognized by new monoclonal antibodies: identification of a linear Fy³ epitope. *Br J Haematol* 2004;124(1):118-22.
28. Tournamille C, Le Van Kim C, Gane P, et al. Arg89Cys substitution results in very low membrane expression of the Duffy antigen/receptor for chemokines in Fy(x) individuals. *Blood* 1998;92(6):2.147-56.
29. Olsson ML, Smythe JS, Hansson C, et al. The Fy(x) phenotype is associated with a missense mutation in the Fy(b) allele predicting Arg89Cys in the Duffy glycoprotein. *Br J Haematol* 1998;103(4):1184-91.
30. Cedergren B, Giles CM. An Fyx individual found in northern Sweden. *Vox Sang* 1973;24:264-6.
31. Buchanan DE, Sinclair M, Sanger R, et al. An Alberta Indian with a rare Duffy antibody anti-Fy3. *Vox Sang* 1976;30:114-21.
32. Habibi B, Perrier P, Salmon C. HD50 assay evolution of the antigens Fy3 depression in Fyx individuals. *J Immunogenet* 1980;7:191-3.
33. Castilho L, Rios M, Pellegrino J Jr, et al. A novel FY allele in Brazilians. *Vox Sang* 2004;87(3):190-5.
34. Tournamille C, Colin Y, Cartron JP, Le Van Kim C. Disruption of a GATA motif in the Duffy gene promoter abolishes erythroid gene expression in Duffy-negative individuals. *Nat Genet* 1995; 10(2):224-8.
35. Iwamoto S, Li J, Sugimoto N, et al. Characterization of the Duffy gene promoter: evidence for tissue-specific abolishment of expression in Fy(a-b-) of black individuals. *Biochem Biophys Res Commun* 1996 24;222(3):852-9.
36. Le Pennec PY, Rouger P, Klein MT, et al. Study of anti-Fy^a in five black Fy(a-b-) patients. *Vox Sang* 1987; 52(3):246-9.
37. Yazdanbakhsh K, Rios M, Storry JR, et al. Molecular mechanisms that lead to reduced expression of Duffy antigens. *Transfusion* 2000 Mar;40(3):310-20.
38. Olsson ML, Hansson C, Avent ND, et al. A clinically applicable method for determining the three major alleles at the Duffy (FY) blood group locus using polymerase chain reaction with allele-specific primers. *Transfusion* 1998;38(2):168-73.
39. Zimmerman PA, Woolley I, Masinde GL, et al. Emergence of FY*A(null) in a *Plasmodium vivax* - endemic region of Papua New Guinea. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 23;96(24):13973-7.
40. Langhi Jr DM, Albuquerque S, Covas DT, et al. Presença do alelo FYAnull, do sistema de grupo sanguíneo Duffy em habitantes de região endêmica para malaria e doadores de sangue no Brasil. *Rev Bras Hemat Hemot* 2004;26(2):268-9.
41. Shimizu Y, Kimura M, Settheetham-Ishida W, et al. Genotyping of Duffy blood group in several Thai ethnic groups. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1997;28(1):32-5.
42. Shimizu Y, Ao H, Soemantri A, et al. Sero- and molecular typing of Duffy blood group in Southeast Asians and Oceanians. *Hum Biol* 2000;72(3):511-8.
43. Lewis GE Jr, Miller LH, Ibrahim L, et al. Duffy phenotypes in Malaysian populations: correction of previous unusual findings. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1988;82 (3):509-10.
44. Rios M, Chaudhuri A, Mallinson G, et al. New genotypes in Fy(a-b-) individuals: nonsense mutations (Trp to stop) in the coding sequence of either FY A or FY B. *Br J Haematol* 2000; 108(2):448-54.
45. Reid ME, Lomas-Francis C. The blood group antigen. Facts book, 1st edn. 1997. California. Academic Press
46. Tournamille C, Le Van Kim C, Gane P, et al. Close association of the first and fourth extracellular domains of the Duffy antigen/receptor for chemokines by a disulfide bond is required for ligand binding. *J Biol Chem* 1997 27;272(26):16274-80.
47. Judson PA, Anstee DJ. Comparative effect of trypsin and chymotrypsin on blood group antigens. *Med Lab Sci* 1977 Jan; 34(1):1-6.
48. Hadley TJ, Peiper SC. From malaria to chemokine receptor: the emerging physiologic role of the Duffy blood group antigen. *Blood* 1997;89(9):3077-91.
49. Woolley IJ, Hotmire KA, Sramkoski RM, et al. Differential expression of the Duffy antigen receptor for chemokines according to RBC age and FY genotype. *Transfusion* 2000;40(8):949-53.
50. Novaretti MCZ, Dorlhiac-Llacer PE, Chamone DAF - Estudo de grupos sanguíneos em doadores de sangue caucásios e negróides da cidade de São Paulo. *Rev Bras Hemat Hemot* 2000; 22(1):23-32.
51. Moulds JM, Hayes S, Wells TD. DNA analysis of Duffy genes in American blacks. *Vox Sang* 1998;74(4):248-52.
52. Sandler SG, Schiliro G, Russo A, et al. Blood group phenotypes and the origin of sickle cell hemoglobin in Sicilians. *Acta Haematol* 1978;60(6):350-7.
53. Daniels G, Poole J, de Silva M, et al. The clinical significance of blood group antibodies. *Transfus Med* 2002;12:287-95.

54. Szymanski IO, Huff SR, Delsignore R. An autoanalyzer test to determine immunoglobulin class and IgG subclass of blood group antibodies. *Transfusion* 1982;22(2):90-5.
55. Mollinson PL, Engelfriet CP, Contreras M, editors. *Blood Transfusion in Clinical Medicine*. 1997 Great Britain, UK: Blackwell Science. Pg 191
56. Issitt PD, Anstee DJ, editors. *Applied Blood Group Serology*, 4 th edn. 1998 Durban, North Carolina USA: Montgomery Scientific Publications. Pg 440-1.
57. Kim HH, Park TS, Oh SH, et al. Delayed hemolytic transfusion reaction due to anti-Fy^b caused by a primary immune response: a case study and a review of the literature. *Immunohematol* 2004; 20(3):184-6.
58. Palatinik M, Junqueira PC, Alves ZMS. Fs: an antigenic determinant possible related to the Duffy blood group. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1982;25:629-37.
59. Riwoom S, Janvier D, Navenot JM, et al. Production of a new murine monoclonal antibody with Fy6 specificity and characterization of the immunopurified N-glycosylated Duffy-active molecule. *Vox Sang* 1994;66(1):61-7.
60. Wasniowska K, Petit-LeRoux Y, Tournamille C, et al. Structural characterization of the epitope recognized by the new anti-Fy6 monoclonal antibody NaM 185-2C3. *Transfus Med* 2002; 12(3): 205-11.
61. Rios M, Reid ME, Naime D, et al. Importance of GATA box analysis in genotyping for the Duffy blood group system. *Transfusion* 1997; 37(Suppl 9S):101S, Abstract.
62. Westhoff CM, Reid ME. Review: the Kell, Duffy, and Kidd blood group systems. *Immunohematol* 2004;20(1):37-49.
63. Goodrick MJ, Hadley AG, Poole G. Haemolytic disease of the fetus and newborn due to anti-Fy(a) and the potential clinical value of Duffy genotyping in pregnancies at risk. *Transfus Med* 1997; 7(4):301-4.
64. Weinstein L, Taylor ES. Hemolytic disease of the neonate secondary to anti-Fya. *Am J Obstet Gynecol* 1975 1;121 (5): 643-5.
65. Babinski A, Berkowitz RL. Haemolytic disease of the newborn caused by anti-c, anti-E and anti-Fya antibodies: report of five cases. *Prenat Diagn* 1999;19(6):533-6.
66. Dufour P, Vinatier D, Bernardi C, et al. Severe fetomaternal anti-Duffy allo-immunization. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 1991;20(6):809-14. Review.
67. Toivanen P, Hirvonen T. Antigens Duffy, Kell, Kidd, Lutheran and Xg a on fetal red cells. *Vox Sang* 1973;24(4):372-6.
68. Cook SG, Baker JW, Weaver EW. Intrauterine transfusion for anti-Duffy (Fy^a) haemolytic disease. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1989; 29:263-4.
69. Geifman-Holtzman O, Wojtowycz M, Kosmas E, Artal R. Female alloimmunization with antibodies known to cause hemolytic disease. *Obstet Gynecol* 1997;89(2):272-5. Review.
70. Hessner MJ, Pircon RA, Johnson ST, Luhm RA. Prenatal genotyping of the Duffy blood group system by allele-specific polymerase chain reaction. *Prenat Diagn* 1999;19(1):41-5.
71. Donahue RP, Bias WB, Renwic JH, McKusick VA. Probable assignment of the Duffy blood group locus to chromosome 1 in man. *Proc Nat Acad Sci* 1968;61: 949-55.
72. Dracopoli NC, O'Connell P, Elsner TI, et al. The CEPH consortium linkage map of human chromosome 1. *Genomics* 1991;9(4):686-700.
73. Mathew S, Chaudhuri A, Murty VV, Pogo AO. Confirmation of Duffy blood group antigen locus (FY) at 1q22-->q23 by fluorescence in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 1994;67(1):68.
74. Neote K, Mak JY, Kolakowski LF Jr, Schall TJ. Functional and biochemical analysis of the cloned Duffy antigen: identity with the red blood cell chemokine receptor. *Blood* 1994;84:44-52.
75. Iwamoto S, Li J, Omi T, et al. Identification of a novel exon and spliced form of Duffy mRNA that is the predominant transcript in both erythroid and postcapillary venule endothelium. *Blood* 1996 1;87(1):378-85.
76. Pogo AO, Chaudhuri A. The Duffy protein: a malarial and chemokine receptor. *Semin Hematol* 2000;37(2):122-9. Review.
77. Moore S, Woodrow CF, McClelland DBL. Isolation of membrane components associated with human red cell antigens Rho(D), (c), (E) and Fya. *Nature* 1982;295:529-31.
78. Hadley TJ, David PH, McGinnis MH, Miller LH. Identification of an erythrocyte component carrying the Duffy blood group antigens Fya antigen. *Science* 1984;223:597-9.
79. Tanner MJ, Anstee DJ, Mallinson G, et al. Effect of endoglycosidase F-peptidyl N-glycosidase F preparations on the surface components of the human erythrocyte. *Carbohydr Res* 1988 15;178:203-12.
80. Masouredis SP, Sudora E, Mahan L, Victoria EJ. Quantitative immunoferritin microscopy of Fya, Fyb, Jka, U, and Dib antigen site numbers on human red cells. *Blood* 1980;56(6):969-77.
81. Hesselgesser J, Horuk R. Chemokine and chemokine receptor expression in the central nervous system. *J Neurovirol* 1999; 5(1):13-26.
82. Hadley TJ, Lu ZH, Wasniowska K, et al. Postcapillary venule endothelial cells in kidney express a multispecific chemokine receptor that is structurally and functionally identical to the erythroid isoform, which is the Duffy blood group antigen. *J Clin Invest* 1994;94(3):985-91.
83. Peiper SC, Wang ZX, Neote K, et al. The Duffy antigen/receptor for chemokines (DARC) is expressed in endothelial cells of Duffy negative individuals who lack the erythrocyte receptor. *J Exp Med* 1995 1;181(4):1311-7.
84. Chaudhuri A, Nielsen S, Elkjaer ML, et al. Detection of Duffy antigen in the plasma membranes and caveolae of vascular endothelial and epithelial cells of nonerythroid organs. *Blood* 1997 15;89(2):701-12.
85. Miller LH, Mason SJ, Clyde DF, McGinnis MH. The resistance factor to *Plasmodium vivax* in blacks. The Duffy-blood-group genotype, FyFy.N *Engl J Med* 1976;295(6):302-4.
86. Ferreira AW, Ávila SLM. Diagnóstico Laboratorial. Guanabara Koogan 2001 2ª edição. Cap 25: 263-73.
87. http://portal.saude.gov.br/saude/arquivos/pdf/be_malaria_01_2003.pdf (Acesso em 16 de novembro de 2004).
88. Aikawa M, Miller LH, Johnson J, Rabbege J. Erythrocyte entry by malarial parasites. A moving junction between erythrocyte and parasite. *J Cell Biol* 1978;77(1):72-82.
89. Miller LH, Aikawa M, Johnson JG, Shiroishi T. Interaction between cytochalasin B-treated malarial parasites and erythrocytes. Attachment and junction formation. *J Exp Med* 1979;149(1):172-84.
90. Walz W, Calandra T, Koth M, KotbM. Cytokines and Chemokines in Infectious Diseases Handbook. Humana Press 2003. Chap 11:248-9.
91. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Imunologia Celular e Molecular*. Revisão 2003 4ª edição. Cap 11: 248.
92. Darbonne WC, Rice GC, Mohler MA, et al. Red blood cells are a sink for interleukin 8, a leukocyte chemotaxin. *J Clin Invest* 1991;88(4):1362-9.
93. Dohlman HG, Thorne J, Caron MG, Lefkowitz RJ. Model systems for the study of seven-transmembrane-segment receptors. *Annu Rev Biochem* 1991;60:653-88.
94. Neote K, Darbonne W, Ogez J, et al. Identification of a promiscuous inflammatory peptide receptor on the surface of red blood cells. *J Biol Chem* 1993 15;268(17):12247-9.
95. Horuk R, Chitnis CE, Darbonne WC, et al. A receptor for the malarial parasite *Plasmodium vivax*: the erythrocyte chemokine receptor. *Science* 1993;261:1182-4.

96. Chaudhuri A, Zbrzezna V, Polyakova J, et al. Expression of the Duffy antigen in K562 cells. Evidence that it is the human erythrocyte chemokine receptor. *J Biol Chem* 1994; 269: 7835-8.
97. Murphy PM. The molecular biology of leukocyte chemoattractant receptors. *Annu Rev Immunol.* 1994;12:593-633.
98. Roitt I, Brostoff J, Male D. *Imunologia*. Manole Ltda 1997 4ª edição. Cap 8.11.
99. Van der Laken CJ, Boerman OC, Oyen WJ, et al. The kinetics of radiolabelled interleukin-8 in infection and sterile inflammation. *Nucl Med Commun* 1998;19(3):271-81.
100. de Winter RJ, Manten A, de Jong YP, et al. Interleukin 8 released after acute myocardial infarction is mainly bound to erythrocytes. *Heart* 1997;78(6):598-602.
101. Tournamille C. Bases moléculaires et relations structure-fonction des antigènes de groupe sanguin Duffy: récepteur de chimiokines et de *Plasmodium vivax*. *Transfus Clin Biol* 2000;7:497-509
102. Middleton J, Neil S, Wintle J, et al. Transcytosis and surface presentation of IL-8 by venular endothelial cells. *Cell* 1997 31;91(3):385-95.
103. Lee JS, Frevert CW, Wurfel MM, et al. Duffy antigen facilitates movement of chemokine across the endothelium in vitro and promotes neutrophil transmigration in vitro and in vivo. *J Immunol* 2003 15;170(10):5244-51.
104. Liu XH, Hadley TJ, Xu L, et al. Up-regulation of Duffy antigen receptor expression in children with renal disease. *Kidney Int* 1999;55(4):1491-500.
105. Segerer S, Regele H, MacK M, et al. The Duffy antigen receptor for chemokines is up-regulated during acute renal transplant rejection and crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* 2000;58 (4):1546-56.
106. Segerer S, Bohmig GA, Exner M, et al. When renal allografts turn DARC. *Transplantation* 2003 15;75(7): 1030-4.
107. Akalin E, Neylan JF. The influence of Duffy blood group on renal allograft outcome in African Americans. *Transplantation* 2003 15;75(9):1496-500.
108. Lee JS, Frevert CW, Thorning DR, et al. Enhanced expression of Duffy antigen in the lungs during suppurative pneumonia. *J Histochem Cytochem* 2003;51(2):159-66.
109. Gardner L, Patterson AM, Ashton BA, et al. The human Duffy antigen binds selected inflammatory but not homeostatic chemokines. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004 20;321(2) : 306-12.
110. Lachgar A, Jaureguiberry G, Le Buenac H, et al. Binding of HIV-1 to RBCs involves the Duffy antigen receptors for chemokines (DARC). *Biomed Pharmacother* 1998;52(10):436-9.
111. Strieter RM, Belperio JA, Phillips RJ, Keane MP. CXC chemokines in angiogenesis of cancer. *Semin Cancer Biol* 2004; 14(3):195-200.
112. Moldovan NI. Tissular insemination of progenitor endothelial cells: the problem, and a suggested solution. *Adv Exp Med Biol.* 2003;522:99-113.
113. Li A, Dubey S, Varney ML, et al. IL-8 directly enhanced endothelial cell survival, proliferation, and matrix metalloproteinases production and regulated angiogenesis. *J Immunol* 2003 15; 170(6):3369-76.
114. Moore BB, Arenberg DA, Stoy K, et al. Distinct CXC chemokines mediate tumorigenicity of prostate cancer cells. *Am J Pathol* 1999; 154:1503-12.
115. Lentsch AB. The Duffy antigen/receptor for chemokines (DARC) and prostate cancer. A role as clear as black and white? *Faseb J.* 2002;16(9):1093-5.

Avaliação: Editor e dois revisores externos
Conflito de interesse: não declarado

Recebido: 03/03/05
Aceito: 28/03/05