

# ANÁLISE DO PERFIL DE ALOIMUNIZAÇÃO ERITROCITÁRIA DE MULHERES COM CÂNCER DE MAMA DO INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER

Analysis of the erythrocyte alloimmunization profile of women with breast cancer at the National Cancer Institute

Renato Nascimento da Costa<sup>1\*</sup>, Flávia Leite Souza Santos<sup>2</sup>, Rodrigo do Tocantis Calado<sup>3</sup>, Margarida de Oliveira Pinho<sup>1</sup>, Simone Santos Peniche Rebouças<sup>1</sup>, Bárbara de Queiroz Gadelha<sup>1</sup>

## RESUMO

**Objetivos:** Descrever o perfil de aloimunização eritrocitária de mulheres diagnosticadas com câncer de mama no Instituto Nacional do Câncer a partir da comparação entre as técnicas de pesquisa de anticorpo irregular utilizada em rotina e a técnica enzimática implantada. **Métodos:** Estudo experimental e prospectivo com aplicação das técnicas de antiglobulina humana e técnica enzimática na pesquisa de anticorpos irregulares de testes pré-transfusionais de mulheres com câncer de mama, atendidas no serviço de hemoterapia do Hospital do Câncer III, no período de junho de 2015 a maio de 2016. As variáveis foram comparadas pelo teste do  $\chi^2$  de Pearson ou teste G, quando indicado. **Resultados:** Foram incluídos 429 casos. Do total, 8 (1,86%) apresentaram pesquisa de anticorpos irregulares positiva em técnica de antiglobulina humana na rotina, enquanto 32 (7,6%) foram observados na técnica enzimática. Foram observadas diferenças significantes entre aloimunizados e não aloimunizados quanto à etnia, classificação RhD, histórico transfusional e tempo de incidência de aloanticorpo. **Conclusão:** Propomos a aplicação da técnica enzimática como método de rotina em pacientes com câncer de mama, como forma de evitar reações transfusionais e transfusões ineficazes.

**PALAVRAS-CHAVE:** Saúde da mulher; neoplasias da mama; antígenos de grupos sanguíneos; aloanticorpos.

## ABSTRACT

**Objective:** To describe the erythrocyte alloimmunization profile of women diagnosed with breast cancer at the National Cancer Institute, based on a comparison between routine antibody and irregular enzyme techniques. **Methods:** Experimental and prospective study with the application of human antiglobulin techniques and enzymatic technique in the search for irregular antibodies in pre-transfusion tests of women with breast cancer treated at the hemotherapy service of Hospital do Câncer III, between June 2015 and May 2016. The variables were compared using Pearson's  $\chi^2$  test or G-test, when indicated. **Results:** 429 cases were included. Of the total, 8 (1.86%) presented positive antibody screening test in routine human antiglobulin technique, while 32 (7.6%) were observed in the enzymatic technique. Significant differences were observed between alloimmunized and non-alloimmunized patients regarding ethnicity, RhD classification, transfusion history and alloantibody incidence time. **Conclusion:** The application of the enzymatic technique is proposed as a routine method in patients with breast cancer, as a way of avoiding transfusion reactions and ineffective phenotype transfusions.

**KEYWORDS:** Women's health; breast neoplasms; blood group antigens; isoantibodies.

Trabalho realizado no Instituto Nacional de Câncer – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

<sup>1</sup>Instituto Nacional do Câncer – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

<sup>2</sup>Hemocentro de Ribeirão Preto – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

<sup>3</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

\*Autor correspondente: renatonasc@globo.com

**Conflito de interesses:** nada a declarar.

**Recebido em:** 22/11/2016. **Aceito em:** 30/05/2017

## INTRODUÇÃO

A aloimunização contra antígenos eritrocitários é um problema cada vez mais comum em pacientes oncológicos submetidos à transfusão, até mesmo naqueles transfundidos de forma esporádica, como nos casos de pacientes com câncer de mama. Sabendo-se que os anticorpos irregulares ocorrem em aproximadamente 0,3 a 2% da população geral, a triagem e identificação dos anticorpos são indispensáveis para adequada seleção de sangue para transfusão. As informações relativas a idade, sexo, raça e história clínica, transfusional e gestacional podem oferecer pistas para os estudos de identificação desses anticorpos. A chance de encontrar anticorpo irregular no soro de receptores aumenta principalmente no sexo feminino, devido à chance de exposição prévia à gestação<sup>1</sup>.

A detecção de anticorpos irregulares deve ser realizada com técnica sensível, capaz de detectar os anticorpos de maior relevância clínica. A falha na detecção de um aloanticorpo pode levar à reação transfusional hemolítica aguda ou tardia com intensidades que podem variar de leve a grave e prejudicar ainda mais a condição clínica do receptor. Muitos anticorpos irregulares desaparecem com o passar do tempo e podem reaparecer após um novo estímulo antigênico. Além dos títulos baixos, a presença de autoanticorpo também pode mascarar a presença de aloanticorpo de importância clínica<sup>2</sup>.

O Hospital do Câncer III (HCIII) atende principalmente à população feminina com diagnóstico de base câncer de mama, sendo de grande interesse o uso de técnicas de triagem capazes de potencializar a identificação de anticorpos de significância clínica. O conjunto de exames realizados antes de uma transfusão é conhecido como testes pré-transfusoriais. Todo candidato a receber transfusão deve ter uma amostra de seu sangue colhido para que seja testada a presença de antígenos e anticorpos presentes em suas hemácias e em seu soro/plasma, respectivamente. De acordo com a Portaria nº 158, de 04 de fevereiro de 2016, do Ministério da Saúde, são obrigatórias a realização da tipagem para o sistema ABO e RhD (antígeno D do sistema Rh), a pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) e a prova cruzada<sup>3</sup>.

Atualmente, a técnica aplicada à PAI no HCIII é a incubação a 37°C, sendo realizada a fase de antiglobulina humana (AGH) com leitura de reação por gel centrifugação. Com a técnica atual de triagem, a frequência de anticorpos irregulares é de 1,25% do total de 2.396 pacientes avaliadas no período entre 2011 e 2013. Foi demonstrado que aproximadamente 83% dos anticorpos irregulares identificados nesse grupo de pacientes podem apresentar aumento de reatividade em meio enzimático<sup>4</sup>.

As enzimas proteolíticas podem promover o aumento das reatividades de alguns aloanticorpos por meio do tratamento enzimático das hemácias-teste. São especialmente indicadas como método acessório de identificação em casos de mistura de anticorpos, ou mesmo em caso de anticorpos importantes clinicamente, mas em baixos títulos. Hemácias tratadas com enzimas terão os antígenos M, N, S, s, Fya e Fyb destruídos e não reagirão com os anticorpos do soro testado. Por outro lado, os

antígenos dos sistemas Rh, Kell, P, I, Kidd e Lewis não são destruídos e reagem mais fortemente com seus anticorpos<sup>5</sup>.

Como o perfil de comportamento de anticorpos irregulares ainda não é bem conhecido nesse grupo de pacientes, o presente estudo teve como objetivo comparar as duas técnicas, AGH e enzima, e descrever o perfil de aloimunização encontrado entre as pacientes com câncer de mama do HCIII.

## MÉTODOS

Estudo experimental e prospectivo, com premissas vinculadas à aloimunização eritrocitária, sendo sua análise aplicada em período de um ano (junho de 2015 a maio de 2016).

O estudo foi desenvolvido na agência transfusional do HCIII, unidade hospitalar do Instituto Nacional do Câncer (INCA), localizado no município do Rio de Janeiro. Os participantes deste estudo foram as pacientes que apresentaram como diagnóstico de base o câncer de mama (CID C50). O critério de inclusão para participação no estudo foi: pacientes do sexo feminino da instituição, atendidas pelos setores de quimioterapia, oncologia clínica, mastologia e centro cirúrgico. Foram excluídos os pacientes do sexo masculino, as pacientes do sexo feminino que não dessem continuidade ao tratamento na instituição e quando houvesse relato ou suspeita de uso da imunoprofilaxia por anti-D.

Os materiais escolhidos para análise foram amostras de sangue periférico das pacientes selecionadas. Todas as amostras foram submetidas à PAI pelas técnicas de Liss/AGH e NaCl/enzima. Quando apresentada PAI positiva, foi realizada a identificação de especificidade do anticorpo irregular na técnica correspondente.

As pacientes que, após avaliação de triagem, enquadraram-se com resultados positivos no PAI, foram convidadas a participar do presente estudo a partir de entrevista formal em ambiente adequado, de forma que se mantivesse a privacidade. Todas as pacientes que aceitaram participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Foi realizado o preenchimento de questionário para verificação do perfil de aloimunização com consequente recolhimento de dados sociodemográficos e clínicos, referentes a idade, etnia (branca, negra, parda e amarela), grupo sanguíneo (A, B, AB e O) e histórico transfusional e gestacional. O histórico gestacional foi representado pelo número de gestações anteriores, sendo categorizadas em zero, uma, duas ou mais. O histórico transfusional foi representado pelas variáveis: número de transfusões externas e número de transfusões internas à instituição — categorizadas em uma, duas, três ou mais.

As variáveis ordinais e nominais foram comparadas pelos testes não paramétricos de  $\chi^2$  de Pearson, ou teste G, quando indicado. O banco de dados foi analisado por meio do pacote estatístico Bioestat (versão 5.0, 2015). Um modelo de regressão logística foi elaborado, visando identificar as variáveis associadas de maneira independente ao desfecho estudado, com valores de  $p < 0,10$  considerados significantes.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (protocolo CAAE-41619415.9.0000.5440), sobre o nome titular de "Avaliação da implementação da pesquisa de anticorpos irregulares com hemácias tratadas com enzima nos exames pré-transfusionais de pacientes com neoplasia maligna de mama do Instituto Nacional do Câncer". Foram respeitadas todas as recomendações de boas práticas clínicas segundo a Resolução do Conselho Nacional de Saúde (CNS) nº 466/2012 e a Convenção de Helsinque.

## RESULTADOS

No período de junho de 2015 a maio de 2016, foram obtidas amostras sanguíneas de 429 pacientes portadoras de câncer de mama, atendidas pela agência transfusional do HCIII, pertencente ao INCA. As amostras foram provenientes de exames imunohematológicos pré-transfusionais, sendo 112 solicitações transfusionais e 317 reservas cirúrgicas. Do total, 8 (1,86%) apresentaram PAI positiva em técnica de Liss\AGH na rotina. A identificação da especificidade dos anticorpos irregulares em Liss\AGH possibilitou a determinação de um total de 12 aloanticorpos, sendo o anti-D o mais predominante, em 5 amostras (41,6%), seguido por 2 anti-E (16,6%), 2 anti-C (16,6%), 1 anti-*lea* (8,4%), 1 anti-*Jka* (8,4%) e 1 anti-S (8,4%). Todas as 421 amostras que apresentaram resultado negativo para triagem de PAI em Liss\AGH foram submetidas à testagem complementar com hemácias papainizadas, o que resultou em uma incidência de positividade em 32 (7,6%) amostras. A identificação de especificidade de anticorpos irregulares pela técnica enzimática determinou ao todo 37 anticorpos, sendo o anti-E o mais predominante, em 13 amostras (35%), seguido por 9 (24%) autoanticorpos públicos quentes, 7 anti-*Lea* (19%), 4 anti-D (11%), 1 anti-C (2,75%), 1 anti-Cw (2,75%), 1 anti-K (2,75%) e 1 anti-Dia (2,75%) (Tabela 1).

As 429 pacientes estudadas (40 aloimunizadas e 389 não aloimunizadas) foram analisadas agrupadamente quanto a: faixa etária e etnia; tipagem ABO/Rh; histórico transfusional e gestacional; tempo entre a identificação do anticorpo nos métodos de Liss\AGH ou enzima; última gestação; e última transfusão.

Analisando a faixa etária das pacientes estudadas, 147 (34,2%) tinham entre 18 e 49 anos, 216 (50,3%) entre 50 e 69 anos e 66 (15,5%) tinham idade igual ou superior a 70 anos. Dentre as aloimunizadas, 23 (57,5%) tinham entre 50 e 69 anos e 193 (49,6%) das não aloimunizadas apresentaram-se na mesma faixa etária. Apesar da maior concentração das aloimunizadas e não aloimunizadas na faixa etária intermediária (50 a 69 anos), não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (teste do  $\chi^2$ ;  $p=0,4314$ ). Quanto à etnia das pacientes avaliadas, 192 (44,7%) eram da cor branca, 150 (34,9%) da cor parda, 81 (18,8%) da cor negra e 6 (1,6%) da cor amarela. Das aloimunizadas, 20 (50%) eram brancas, 9 (22,5%) eram pardas, 9 (22,5%) da cor negra e 2 (5%) da cor amarela, enquanto nas não aloimunizadas esses percentuais foram de 44,2; 36,2; 18,5 e 1,1%, respectivamente. Foi evidenciado predomínio de pacientes que se autointitularam de cor branca, sendo observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos comparados (teste do  $\chi^2$ ;  $p=0,0847$ ) (Tabela 2).

Quanto à tipagem ABO, 189 pacientes (44%) eram O, 162 (37,7%) A, 63 (14,7%) B e 15 (3,6%) AB. Dentre as aloimunizadas, o mais frequente foi o O, em 19 pacientes (47,5%), seguido pelo A, em 13 pacientes (32,5%). Das não aloimunizadas, as tipagens ABO mais frequentes também foram o O (43,7%) e A (38,3%), não havendo diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos de pacientes (teste G;  $p=0,8791$ ). Quanto à tipagem RhD, 382 (89%) eram RhD positivo e 47 (11%) eram RhD negativo. O predomínio de RhD positivo foi verificado tanto no grupo de aloimunizadas quanto no de não aloimunizadas, com percentuais de 75 e 90%, respectivamente. Ao se comparar ambos

**Tabela 1.** Distribuição do percentual e especificidade de aloanticorpos eritrocitários, Rio de Janeiro, 2015 a 2016.

Aloanticorpo	Rotina INCA Liss/AGH n (%)	NACL/ENZIMA n (%)	Associação das técnicas n (%)
Anti-D	5 (41,6)	4 (11)	9 (18,7)
Anti-E	2 (16,6)	13 (35)	15 (31,2)
Anti-C	2 (16,6)	1 (2,75)	3 (6,2)
Anti-cw	0 (0,0)	1 (2,75)	1 (2,12)
Anti-K	0 (0,0)	1 (2,75)	1 (2,12)
Anti- <i>lea</i>	1 (8,4)	7 (19)	7 (14,6)
Anti- <i>Jka</i>	1 (8,4)	0 (0,0)	1 (2,12)
Anti-Dia	0 (0,0)	1 (2,75)	1 (2,12)
Anti-S	1 (8,4)	0 (0,0)	1 (2,12)
Autoanticorpo	0 (0,0)	9 (24,3)	9 (18,7)
Total	12 (100)	37 (100)	48 (100)

INCA: Instituto Nacional do Câncer; AGH: antiglobulina humana.

os grupos, observamos diferença estatisticamente significativa (teste G;  $p=0,0147$ ) (Tabela 3).

Do total de pacientes estudadas, 65 (16%) tinham histórico transfusional, enquanto 364 (84%) não haviam recebido transfusões previamente. Dentre as aloimunizadas, 29 (72,5%) não haviam recebido transfusões prévias e 11 (27,5%) receberam transfusões de concentrados de hemácias no HCIII antes da detecção do anticorpo irregular neste estudo. Das não aloimunizadas, 335 (86%) não tinham antecedente transfusional, determinando uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (teste do  $\chi^2$ ;  $p=0,0398$ ). Quanto ao número de transfusões de concentrados de hemácias no HCIII, 31 pacientes (47,7%) receberam de 1 a 2 transfusões, 22 (33,8%) receberam de 3 a 4, e 12 pacientes (18,5%) receberam mais de 5 transfusões. Das aloimunizadas, 6 (54,5%) receberam até 2 transfusões, 3 (27,3%) receberam de 3 a 4, e 2 (18,2%) pacientes receberam mais de 5 transfusões. Dentre as não aloimunizadas, esses percentuais foram, respectivamente, 46,3; 35,2 e 18,5%. Ao comparar aloimunizadas e não aloimunizadas, não observamos diferença estatisticamente significativa (teste G;  $p=0,8676$ ). Das 429 mulheres estudadas, 387 (90,2%) tiveram histórico gestacional e 42 (9,8%) não tiveram.

Das aloimunizadas, 37 (92,50%) apresentaram histórico gestacional, enquanto 3 (7,50%) não apresentaram. Dentre as não aloimunizadas, a grande maioria (90%) teve antecedentes gestacionais, enquanto apenas 10% não referiram gestações prévias. Ao compararmos aloimunizadas e não aloimunizadas, não houve diferença estatisticamente significativa (teste do  $\chi^2$ ;  $p=0,8162$ ). Quanto às mulheres com histórico gestacional, 76 (17,7%) tiveram apenas 1 gestação e 311 (72,3%) referiram ter apresentado 2 ou mais gestações. Dentre as aloimunizadas, 5 (13,5%) tiveram única gestação e 32 (86,5%) tiveram 2 ou mais gestações. Os respectivos valores percentuais de 20,3 e 79,7% foram encontrados nas não aloimunizadas. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre aloimunizadas e não aloimunizadas (teste G;  $p=0,5128$ ). (Tabela 4).

Das 387 mulheres que apresentaram histórico gestacional, foi verificado o tempo decorrido entre a última gestação e o primeiro PAI realizado neste estudo, com o intuito de analisar o tempo de prevalência de anticorpos irregulares. Os resultados obtidos demonstraram que 52 (13,4%) decorreram de 1 a 9 anos, 82 (21,2%) entre 10 e 19 anos e 253 (65,4%) com valor igual e/ou superior a 20 anos. Das aloimunizadas, 5 (13,6%) apresentaram tempo até 9 anos, 8 (21,6%) entre 10

**Tabela 2.** Distribuição das pacientes de acordo com faixa etária e etnia, Rio de Janeiro, 2015 a 2016.

	Aloimunizadas n (%)	Não aloimunizadas n (%)	Teste do $\chi^2$
<b>Faixa etária (anos)</b>			
18 a 49	10 (25)	137 (35,2)	Contingência=3x2 $\chi^2=1,682$ Graus de liberdade=2 $p=0,4314$
50 a 69	23 (57,5)	193 (49,6)	
Maior ou igual a 70	7 (17,5)	59 (15,2)	
Total	40 (100)	389 (100)	
<b>Etnia</b>			
Branca	20 (50)	172 (44,2)	Contingência=4x2 $\chi^2=6,628$ Graus de liberdade=3 $p=0,0847$
Parda	9 (22,5)	141 (36,2)	
Negra	9 (22,5)	72 (18,5)	
Amarela	2 (5)	4 (1,1)	
Total	40 (100)	389 (100)	

**Tabela 3.** Distribuição das pacientes de acordo com a tipagem ABO e RhD, Rio de Janeiro, 2015 a 2016.

	Aloimunizadas n (%)	Não aloimunizadas n (%)	Teste G
<b>Tipagem ABO</b>			
O	19 (47,5)	149 (38,3)	Contingência=4x2 Graus de liberdade=3 Teste G=0,7119 $p=0,8791$
A	13 (32,5)	193 (49,6)	
B	6 (15)	59 (15,2)	
AB	2 (5)	170 (43,7)	
Total	40 (100)	389 (100)	
<b>Tipagem RhD</b>			
Positivo	30 (75)	352 (90)	Contingência=4x2 Graus de liberdade=3 Teste G=7,0675 $p=0,0147$
Negativo	10 (15)	37 (10)	
Total	40 (100)	389 (100)	

e 19 anos e 24 (64,8%) para valores iguais e/ou superiores a 20 anos. Dentre as não aloimunizadas, os percentuais foram, respectivamente, 13,5; 21,1 e 65,4%. Apesar da maior concentração das aloimunizadas e não aloimunizadas na faixa majoritária de tempo decorrido (>20 anos), não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (teste G;  $p=0,9973$ ). Das 60 mulheres que apresentaram histórico transfusional, foi verificado o tempo decorrido entre a última transfusão e o primeiro PAI realizado neste estudo, com o intuito de estimar o tempo de incidência de anticorpos irregulares. Considerando que uma resposta imune secundária pode acontecer dentro de um período de até 72 horas, as pacientes selecionadas foram distribuídas em margens de valor superior e inferior a esse tempo. Das 60 mulheres estudadas, 51 (85%) apresentaram tempo

superior a 72 horas e apenas 9 (15%) apresentaram tempo igual e/ou inferior. Todas as aloimunizadas (100%) apresentaram resultado superior a 72 horas. Dentre as não aloimunizadas, o mesmo tempo apresentou-se em 41 (82%) pacientes. Ao compararmos aloimunizadas e não aloimunizadas, houve uma diferença estatisticamente significativa (teste G;  $p=0,0583$ ) (Tabela 5).

## DISCUSSÃO

Quanto à faixa etária dos indivíduos com PAI positiva, observamos que a maior ocorrência de aloimunização foi entre 50 e 69 anos (57,5%). Resultado semelhante ao encontrado no estudo de Shin<sup>6</sup>, no qual os pacientes oncológicos aloimunizados apresentaram predominância

**Tabela 4.** Distribuição das pacientes de acordo com o histórico transfusional e gestacional, Rio de Janeiro, 2015 a 2016.

	Aloimunizadas n (%)	Não aloimunizadas n (%)	Testes $\chi^2$ e G
<b>Histórico transfusional</b>			
Sim	11 (27,5)	54 (14)	Contingência=2x2 Graus de liberdade=1 $\chi^2=5,232$ $p=0,0398$
Não	29 (72,5)	335 (86)	
Total	40 (100)	389 (100)	
<b>Número de transfusões</b>			
1 a 2	6 (54,5)	25 (46,3)	Contingência=3x2 Graus de liberdade=2 Teste G=0,3051 $p=0,8676$
3 a 4	3 (27,3)	19 (35,2)	
Maior ou igual a 5	2 (18,2)	10 (18,5)	
Total	11 (100)	54 (100)	
<b>Histórico gestacional</b>			
Sim	37 (92,5)	350 (90)	Contingência=2x2 Graus de liberdade=1 $\chi^2=0,262$ $p=0,8162$
Não	3 (7,5)	39 (10)	
Total	40 (100)	389 (100)	
<b>Número de gestações</b>			
0	3 (7,5)	39 (10,1)	Contingência=3x2 Graus de liberdade=2 Teste G=1,3357 $p=0,5128$
1	5 (12,5)	71 (18,2)	
2 ou mais	32 (80)	279 (71,7)	
Total	40 (100)	389 (100)	

**Tabela 5.** Distribuição das pacientes de acordo com o tempo de prevalência e incidência de aloanticorpos, Rio de Janeiro, 2015 a 2016.

	Aloimunizadas n (%)	Não aloimunizadas n (%)	Teste G
<b>Tempo de prevalência (anos)</b>			
1 a 9	5 (13,6)	47 (13,5)	Contingência=3x2 Graus de liberdade=2 Teste G=0,0054 $p=0,9973$
10 a 19	8 (21,6)	74 (21,1)	
Maior ou igual a 20	24 (64,8)	229 (65,4)	
Total	37 (100)	350 (100)	
<b>Tempo de incidência (horas)</b>			
Menor que 72	0 (0,00)	9 (18)	Contingência=2x2 Graus de liberdade=1 Teste G=3,5857 $p=0,0583$
Maior ou igual a 72	10 (100)	41 (82)	
Total	10 (100)	50 (100)	

de 75,4%, na faixa etária superior a 50 anos. Os nossos resultados são discordantes dos encontrados pelo estudo de Zaman et al.<sup>7</sup> sobre aloimunização em pacientes hematológicos e oncológicos na Índia; eles observaram que apenas 28% dos aloimunizados tinham idade superior a 50 anos. Também Mohsin<sup>8</sup> apresentou resultados divergentes dos do presente estudo: em sua pesquisa, os pacientes com câncer de mama correspondiam a 68% do total de pacientes analisados e a média de idade no grupo dos aloimunizados era de 49 anos. Apesar do baixo índice de aloimunizados em idade avançada ( $\geq 70$  anos), o nosso estudo mostra que, do total de aloimunizados, a maioria (65,8%) tinha idade igual ou superior a 50 anos, índice bastante similar ao grupo controle (64,8%), demonstrando que a idade avançada poderia estar diretamente ligada ao quadro de decaimento de título dos aloanticorpos formados. Segundo Cozac<sup>9</sup>, alguns estudos relacionados a vacinas demonstraram que o envelhecimento enfraquece a resposta de linfócitos T e B naïve a patógenos, encurtando assim a duração da proteção imunitária, o que deve refletir também na persistência dos aloanticorpos formados.

Em nosso trabalho, verificamos uma predominância de 50% nos indivíduos aloimunizados de origem caucasiana, com valor similar ao controle (44,7%), e significativa diferença estatística (teste do  $\chi^2$ ;  $p=0,0847$ ). Ao levarmos em consideração a origem não caucasiana, é observada uma discreta equivalência de proporção entre aloimunizados (50%), entre os não aloimunizados (55,8%) e entre o número total de indivíduos analisados (55,3%). Com esses dados podemos inferir que a aloimunização eritrocitária é gerada a partir das diferenças entre o padrão fenotípico eritrocitário da população, seja sua exposição dada principalmente por gestação entre união de sexos ou a partir de transfusões entre doadores e receptores. A predominância branca em nosso estudo, sobre uma exposição antigênica de uma população predominantemente parda no Rio de Janeiro<sup>10</sup>, favorece a aloimunização eritrocitária.

Na população brasileira, a prevalência do fenótipo RhD negativo é variável e heterogênea nas várias regiões do país. Em nosso estudo, o predomínio da tipagem RhD positivo foi observado tanto nas pacientes aloimunizadas quanto nas não aloimunizadas, com percentuais de 75 e 90%, respectivamente. Resultado semelhante a estudo no Rio de Janeiro, no qual a frequência de doadores de sangue RhD positivo foi de 90,2%. A maior proporção de mulheres RhD negativo no grupo de aloimunizadas, em comparação às não aloimunizadas recai sobre a especificidade dos anticorpos irregulares identificados no presente estudo. Partindo-se do pressuposto que o D é considerado o mais imunogênico dos antígenos eritrocitários, após o sistema ABO10, nosso estudo apresentou o anti-D como o principal aloanticorpo identificado pela técnica em AGH.

Entre as pacientes com PAI positiva em nosso trabalho, observamos que 27,5% apresentaram histórico transfusional. Tal resultado é semelhante ao do estudo de Alves<sup>11</sup>, em que 29,41% dos indivíduos aloimunizados tinham recebido transfusões previamente. Em nosso estudo, os indivíduos aloimunizados receberam entre 1 e 7 transfusões de concentrado de hemácias, com uma média de

3,18 transfusões por paciente, o que está de acordo com a literatura<sup>6,12</sup>. Por outro lado, observamos que a proporção de aloimunizados que receberam mais de 5 transfusões não foi estatisticamente significativa ( $p=0,8676$ ) em relação à dos não aloimunizados, já que seus valores são equivalentes (18,2 e 18,5%, respectivamente). Os dados obtidos eram esperados, já que o perfil de terapia transfusional de pacientes portadores de câncer de mama é considerado não crônico. Resultado semelhante foi obtido em estudo retrospectivo multicêntrico de 20 anos, com pacientes aloimunizados, não transfundidos cronicamente, no qual 80 (57%) foram sensibilizados após receberem um número mediano de 2 unidades de hemácias<sup>12</sup>. Tal resultado mostra que a presença de aloimunização, em nosso estudo, não teve correlação com o número de transfusões recebidas na instituição, e sim com o histórico transfusional. Esse achado reforça a possibilidade de prevalência de aloanticorpos pré-formados nesse grupo de pacientes oncológicos.

Apesar de a nuliparidade ser apontada como fator de risco em mulheres para serem portadoras do câncer de mama<sup>13</sup>, nosso estudo apresentou resultado discordante, demonstrando que, dentre as mulheres aloimunizadas, a grande maioria (92,5%) tinha histórico gestacional. Dado semelhante ao apresentado por Santos<sup>13</sup>, que encontrou uma frequência semelhante de mulheres aloimunizadas com histórico gestacional (93,33%). Já no estudo de Natukunda<sup>14</sup>, apenas 62,5% das mulheres que produziram aloanticorpos tiveram gestações anteriores. Porém, em nosso trabalho, um fato chama bastante atenção. Apesar de não haver diferença estatística significativa ( $p=0,8135$ ), tal resultado é exatamente o oposto do que se esperava, pois as gestações são uma importante causa de aloimunização nas mulheres<sup>1,7-10,12,14,15</sup>. Portanto, consideramos esse resultado casual.

Em todas as 4 pacientes nas quais foi possível detectar aloimunização pós-transfusão, verificamos que o tempo para produção de aloanticorpos variou de 5 dias a 1 mês, com uma média de 21 dias, decorrendo do tempo entre a primeira transfusão de concentrados de hemácias e a identificação da aloimunização. Esses nossos resultados estão de acordo com estudo citado por Bordin<sup>12</sup>, no qual, ao ser utilizada em AGH, foram detectados aloanticorpos com tempo médio de 20 dias. A partir desses resultados, nosso trabalho utilizou o período decorrido entre a última transfusão e a primeira PAI realizada pelo estudo como uma forma de se obter uma estimativa de tempo de incidência de aloanticorpos, com significativa diferença estatística. Nas pacientes aloimunizadas, verificamos que o tempo observado variou entre 5 dias e 8 meses, enquanto que nas não aloimunizadas o tempo observado variou entre 1 dia e 24 meses. No estudo de Santos<sup>13</sup>, o tempo para produção de aloanticorpos variou de 3 a 97 dias, sendo 20,88 dias o tempo médio. Schonewille<sup>16</sup> observou que 16,8% dos pacientes se tornaram aloimunizados em até 14 dias após as transfusões e 2,3% produziram aloanticorpos em no máximo 3 dias. Ainda nesse mesmo trabalho, dentre os aloanticorpos que surgiram, constatou-se que a maior parte (42,8%) era anti-E. Tal resultado está de acordo com nosso trabalho, no qual 2 (50%) dos

4 indivíduos aloimunizados precocemente desenvolveram o aloanticorpo em questão. Ao verificarmos as 22 pacientes aloimunizadas que apresentaram unicamente histórico gestacional, foi observado que a persistência de aloanticorpos variou de 2 a 57 anos, com uma média de 25,4 anos. A partir da técnica em AGH, o anti-D foi o principal aloanticorpo, detectado em 4 (18%) pacientes. Na técnica em AGH, a persistência variou entre 15 e 42 anos, com uma média de 30 anos. Enquanto na técnica enzimática, o anti-E foi o principal aloanticorpo, detectado em 8 (36%) pacientes, com variação de persistência de 2 a 57 anos, com uma média de 23,5 anos. Esses resultados demonstram que a técnica enzimática pode ser utilizada com o intuito de detectar aloimunização em reduzido intervalo de tempo pós-exposição. Neste estudo não foi encontrada paciente aloimunizada que apresentasse unicamente histórico transfusional.

## CONCLUSÃO

O presente estudo, realizado em mulheres portadoras do câncer de mama, a partir da triagem combinada dos testes de Liss/AGH e enzimático, mostrou uma frequência de aloimunização eritrocitária de 9,32%. Adiciona-se a esse achado que a aplicação do método enzimático na rotina de pesquisa de anticorpos

irregulares proporcionou um índice de positividade até sete vezes maior do que quando apenas o método de LISS/AGH é aplicado.

A maioria das aloimunizadas apresentou aloanticorpos de significância clínica (sistema Rh). Observamos que a aloimunização não está correlacionada ao número de transfusões de concentrados de hemácias na instituição, confirmando a hipótese de aloimunização prévia, principalmente por históricos gestacionais e transfusionais. Como a aloimunização prévia pode nem ser detectada na PAI por Liss/AGH, e a partir do momento que foi observado que o tempo para geração de aloanticorpos seria longo (superior a 72 horas), os resultados obtidos demonstraram que a técnica enzimática pode ser utilizada com o intuito de se detectar aloanticorpos em reduzido intervalo de tempo pós-exposição a antígenos eritrocitários.

Diante desses fatos, propomos a aplicação da técnica enzimática como método de rotina. Também propomos a ampliação deste projeto na rotina pré-transfusional sobre os demais grupos de pacientes oncológicos. Tal medida certamente contribuirá para reduzir os índices de aloimunização eritrocitária nos receptores eventuais de concentrados de hemácias, como nos politransfundidos e, conseqüentemente, diminuirá o risco de transfusões fenótipo incompatíveis que poderiam acarretar reações transfusionais hemolíticas ou transfusões ineficazes.

## REFERÊNCIAS

- Girello AL, Kuhn TIBB. Fundamentos da imuno-hematologia eritrocitária. São Paulo: Senac; 2013. 253 p.
- Harmening MD. Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão. Rio de Janeiro: Revinter; 2015. 708 p.
- Brasil. Ministério da Saúde. Portaria n.º 158, de 4 de fevereiro de 2016. Dispõe sobre a regulamentação técnica de procedimentos hemoterápicos no Brasil. Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Diário Oficial da União. 2016;Seção 1:1-37.
- Costa RN. Avaliação da frequência de anticorpos irregulares de pacientes em um serviço de hemoterapia do Rio de Janeiro especializado no atendimento do câncer de mama [dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2013.
- Takeshita A, Adachi M, Kim D, Han K. Differences in transfusion related alloimmunity to erythrocytes between South Korea and Japan. Basic Science and Clinical Practice in Blood Transfusion: 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco. 2014. p. 3.
- Shin JW. Unexpected red cell antibody detection by conditional combination of LISS/Coombs and NaCl/Enzyme gel tests at a tertiary care hospital in Korea: A 5-year study. Blood Research. 2013;48(3):217-21.
- Zaman S, Chaurasia R, Chatterjee K, Thapliyal RM. Prevalence and Specificity of RBC Alloantibodies in Indian Patients Attending a Tertiary Care Hospital. Adv Hematol. 2014;2014:1-5.
- Mohsin S. Red Cell Alloimmunization in Repeatedly Transfused Cancer Patients. J Rawalpindi Med Col. 2013;17(2):219-22.
- Cozac APCNC. Estudo do potencial antigênico relativo dos antígenos de grupos sanguíneos menores em pacientes sob esquema transfusional [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2009.
- Castilho SL. Determinação ante-natal da genotipagem RhD fetal a partir de plasma materno como uma ferramenta de acompanhamento de gestante RhD [dissertação]. Rio de Janeiro: Fundação Osvaldo Cruz; 2011.
- Alves VM. Frequência de aloanticorpos irregulares em receptores de concentrados de hemácias atendidos com emergências médicas e/ou com doenças agudas no hospital das clínicas da UFTM [dissertação]. Minas Gerais: Universidade Federal do Triângulo Mineiro; 2010.
- Bordin JO. Aloimunização após transfusão de concentrado de hemácia em pacientes atendidos em um serviço de emergência. Rev Bras Hematol Hemoter. 2007;29(4):339-43.
- Santos FWR. Post-transfusion red alloimmunization in patients with acute disorders and medical emergencies. Rev Bras Hematol Hemoter. 2015;29(4):369-72.
- Natukunda B. Post-transfusion and maternal red blood cell alloimmunization in Uganda [dissertação]. Leiden: Universidade de Leiden; 2013.
- Bittencourt LP, Pinho MO, Ribeiro VF, Santos RP, Souza FA, Souza WF, et al. Perfil de aloimunização dos pacientes do hospital do câncer II. Rev Bras Hematol Hemoter. 2012;34(2):485-6.
- Schonewille H. Red blood cell alloantibodies after transfusion: factors influencing incidence and specificity. Transfusion. 2006;46:250-6.